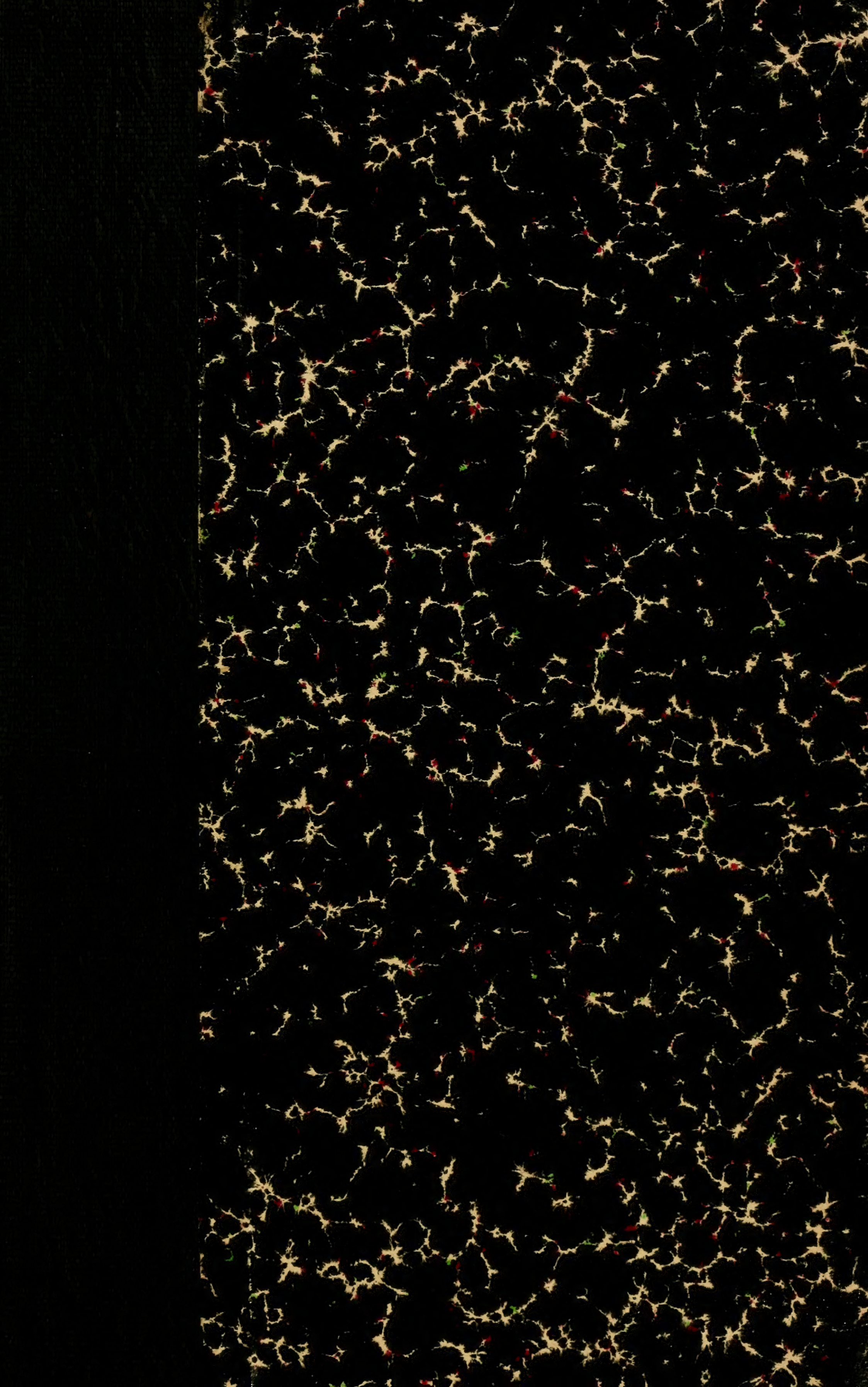


BOLETÍN

DE LA

SOCIEDAD ESPAÑOLA

DE

BIOLOGÍA

AÑO VI = TOMO V

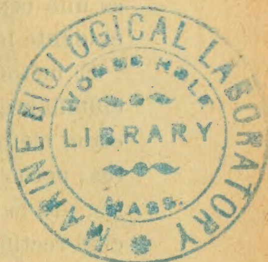
MADRID
IMPRENTA Y LIBRERÍA DE NICOLÁS MOYA
Garcilaso, 6, y Carretas, 8.

1916

ÍNDICE DEL TOMO V

Págs.

SESIÓN DEL 21 DE ENERO DE 1916



Sobre la banda de cierre de los epitelios

POR

P. DEL RÍO HORTEGA

Es creencia unánime de los histólogos que las células epiteliales prismáticas ofrecen en su parte superior, cerca del borde libre, un refuerzo de la membrana ó una condensación del cemento que las une.

Denomínase esta formación «banda de cierre» ó Schlussleiste y existe en algunos epitelios de células cuboideas y principalmente en los de células prismáticas, ya se hallen éstas guarnecidas de cilios vibrátiles ó ya posean bastoncitos rígidos, aglomerados en forma de cutícula, los cuales, según Prenant, son pestañas vibrátiles, en cierto modo inmóviles y como atrofiadas por el hecho de la inmovilización.

Inmediatamente por debajo del borde ciliado ó de la chapa, la hendidura intercelular, rellena de cemento, hállase cerrada por una banda especial, de substancia dura, la cual, bordeando la superficie libre de la célula epitelial, dibuja correctamente su forma poliédrica, con un grueso trazo intensamente teñido con el método de Heidenhain.

Visto el epitelio por su cara interna ó libre, forma la banda de cierre «una elegante reticulación horizontal», según frase de Cajal; pero visto de lado, esto es, en cortes verticales, distínguese tan sólo la sección de la banda, en forma de pequeños discos encajados entre las células, los cuales resaltan (por su intensa coloración con la hematoxilina férrica), inmediatamente debajo de la cutícula epitelial.

Estos dos discos ó puntos intercelulares, fueron vistos primeramente por Prenant y estudiados más tarde por Zimmermann, Cajal, Cohn, Bonnet, Stöhr y otros autores, los cuales reconocieron su significación aparente y demostraron que representaban la sección transversal del polígono que rodea á las células.

Pero la naturaleza verdadera de la banda de cierre, no aparece bien definida en las descripciones de los autores: Cajal, admite que puede con-

siderarse como un refuerzo de la membrana fundamental ó como una cápsula de secreción incompleta.

Las denominaciones alemanas Schlussleiste (banda de cierre) y Kittleiste (banda de cementación), suponen que la materia que la constituye es una especie de cemento. Por lo demás, tan sólo se tiene como hecho evidente lo que respecta á su colorabilidad.

El método de Heidenhain revela casi constantemente esta formación epitelial, que con frecuencia aparece también con el de Achúcarro. Con estos métodos, hemos comprobado á menudo lo descripto por los autores; pero recientemente, estudiando un corte de hígado del Helis hortensis, nos ha sorprendido una disposición muy distinta de la reseñada, la cual rectifica en parte, la creencia de nuestros maestros Cajal y Prenant y demás autores que la comparten.

Las imágenes intachables del método de Heidenhain han sido esta vez superadas por el método de Achúcarro, que demuestra que la denominada banda de cierre, es en ciertos casos al menos una mera apariencia, debida á la coloración imperfecta de los granitos basales ó blefaroplastos de las células epitélicas.

En la preparación que presentamos se ve que las células que revisten los conductos biliares — células ciliadas — poseen en su borde libre una hilera de granitos basales (Basalkörperchen), cada uno de los cuales da inserción á una pestaña. La superficie libre del epitelio (figs. 1 y 2) exhibe una formación reticular, de espacios poligonales, morfológicamente idéntica á la banda de cierre, pero con diferencias esenciales en su estructura. En efecto; en lugar de aparecer formada de líneas macizas y homogéneas, está constituída por una serie de granitos redondos é iguales, perfectamente individualizados y dispuestos en varias filas concéntricas á cada célula. Los granos más externos de una y otra célula hállanse tan próximos, que no es posible decir á cuál de ella pertenecen y mucho menos pensar en la existencia de resquicios, que pudieran ser ocupados por la verdadera banda de cierre.

A ras de la superficie de sección del epitelio, tales cuerpecitos se enlazan con la hilera de granitos basales que guarnece el borde libre de la célula vista de lado.

En este caso pues, la cosa está bien clara : la banda de cierre no es un refuerzo del cemento intercelular ni un espesamiento de la membrana celular, sino una apariencia resultante de la alineación periférica de los blefaroplastos ó cuerpos basales del epitelio.

La situación de estos cuerpecitos en la periferia de la célula dejando libre la parte central de ella, tiene alguna importancia, por el hecho de que, siendo evidente y por todos admitido, que cada uno de los granos

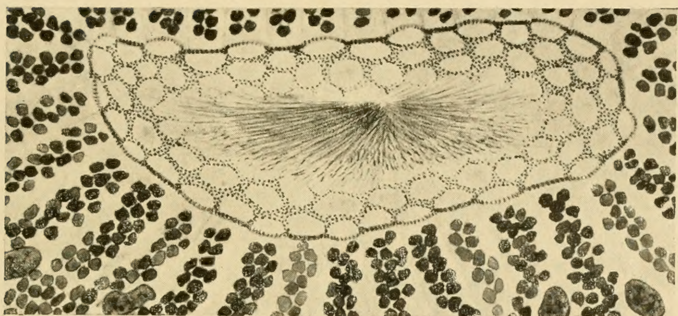


Fig. 1.—Conductillo hepático del Helix hortensis. Los granitos subciliares del epitelio dibujan una red de mallas poligonales. En las células existen abundantes granos de secreción. Método de Achúcarro.

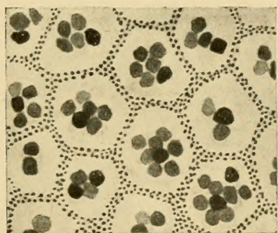
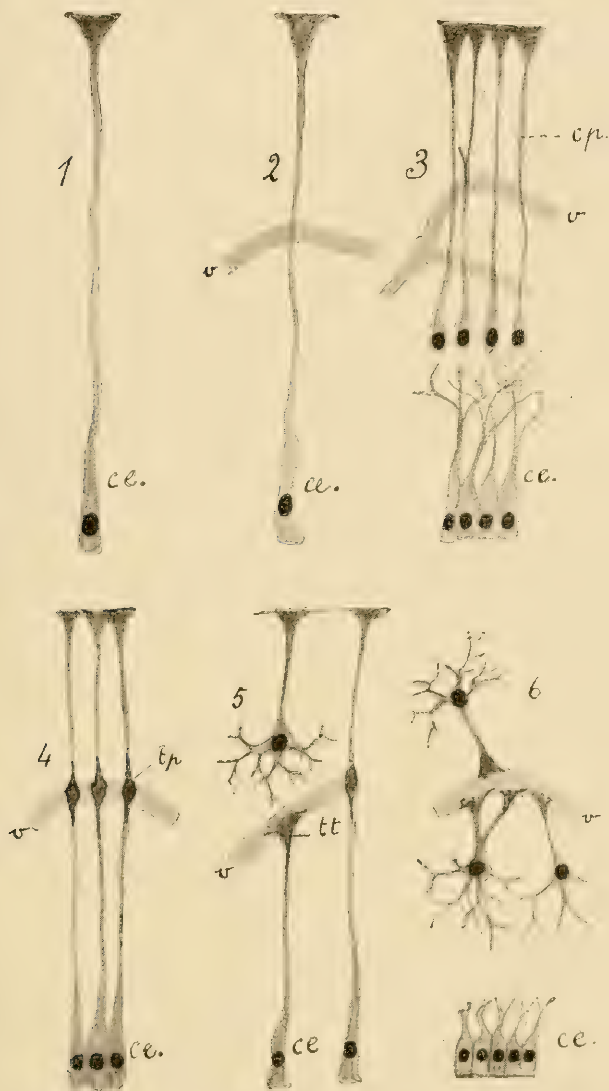


Fig. 2. — Epitelio de un conductillo hepático del Helix hortensis, visto por su superficie libre. Los granitos subciliares simulan la banda de cierre. Método de Achúcarro.



Dibujo esquemático representando las fases de evolución de las relaciones de las células neuróglicas con los vasos.

1) *ce,* célula ependimaria con trompa en la superficie del sistema nervioso que no contiene vasos.
2) *ce,* célula ependimaria pasando sobre un vaso *(v)* sin establecer con él relaciones íntimas. Cuerpo estriado de la lubina.
3) *ce,* células del sistema ependimario.—*cp,* células del sistema perforante que cruzan un vaso *(v)* sin insertarse en él. Lóbulo óptico de la lubina.
4) *ce,* células ependimarias cruzando un vaso *(v)* é insertándose en él por trompas de paso *(tp)*.
5) *ce,* célula ependimaria insertándose por medio de una trompa terminal *(tt)* en un vaso *(v)*. A su lado una célula en trompa de paso (lagarto, núcleo del septum).
6) *ce,* células ependimarias sin relaciones vasculares.—*v,* vaso sobre el cual se insertan trompas neuróglicas de células autónomas (aves, mamíferos).

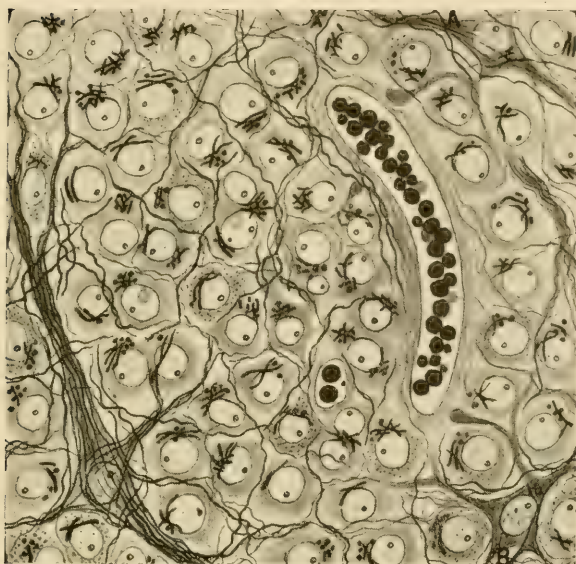


Fig. 1.—Epífisis humana. Células lobulillares con sus filamentos y granitos intraprotoplásmicos; obsérvese la variedad de disposición de estas formaciones, dentro de un solo tipo común á todas las células (método de Achúcarro).

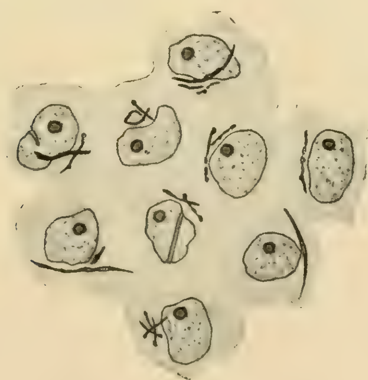


Fig. 2.—Células epifisarias de un niño con tumor del cerebelo; filamentos protoplásmicos largos y moniliformes (método de Achúcarro).

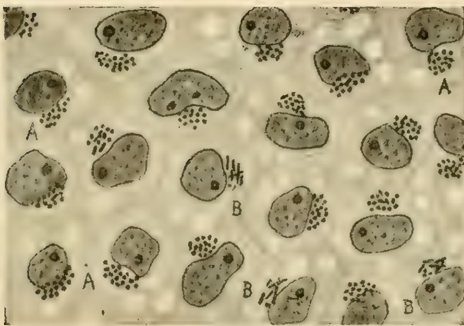


Fig. 3. — Epitelio ependimario próximo á una placa de ependimitis varioliforme, visto de plano. — A, colonias de blefaroplastos con aspecto normal; B, blefaroplastos alargados en forma de bastoncito (método de Achúcarro modificado).

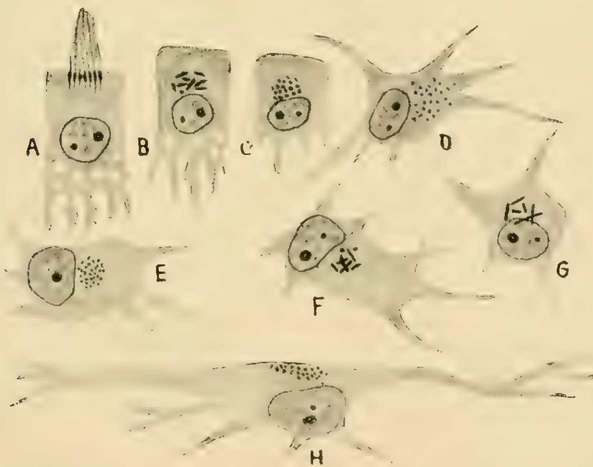


Fig. 4. — Transformación de las células ependimarias en neuróglicas, en un caso de ependimitis. — A, célula ependimaria normal; B, F, G, elementos cuyos blefaroplastos han emigrado cerca del núcleo, disminuyendo en número y adquiriendo forma baciloide; C, D, E, H, células neuróglico-ependimarias, cuyos blefarosomas no se han alterado (método de Achúcarro modificado).

basales da inserción, por arriba, á una pestaña, y por abajo, á una fibrilla protoplásmica, es evidente también, que las pestañas ó flagelos han de estar situados tan sólo en el borde de la célula y que las epitelio-fibrillas han de ser periféricas del mismo modo. Resulta así una forma especial en la disposición de los cilios, que no ha sido bien observada por los investigadores. Heidenhain, que ha estudiado los conductos hepáticos del Helix hortensis, ha supuesto que toda la superficie libre de la célula estaba provista de cuerpecitos basales, que toda la superficie libre poseía pestañas y que las fibrillas protoplásmicas formaban un cono de vértice dirigido hacia el núcleo. En el mismo órgano del mismo animal es donde el método de Achúcarro demuestra que la disposición no es como Heidenhain supone y dibuja. Lo que sí puede comprobarse en nuestras preparaciones es la disposición de las epitelio-fibrillas en forma de cono, ó mejor dicho, de embudo, con el vértice cercano al núcleo, y la relación que existe entre los flagelos y las epitelio-fibrillas á través del bulbo de la pestaña y el granito basal, unidos entre sí por un cuerpo intermediario.

Por lo demás, creemos que la forma de distribución de los granos basales y de implantación de los flagelos, debe ofrecer algunas variaciones relacionadas con la función celular. Así, en el Helis, la situación marginal de estos elementos coincide con la existencia de abundantes granos de secreción dentro de la célula (figs. 1 y 2).

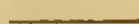
En investigaciones que actualmente practicamos sobre la histología de los epitelios, además de interesantísimos aspectos de las epitelio-fibrillas, hemos ya visto varias modalidades de distribución de los blefaroplastos, pero todo esto será objeto de comunicaciones ulteriores.



Estudio parasitológico de 100 apéndices humanos

POR

SADI DE BUEN



Desde que en Marzo de 1901 presentó Metchnikoff el primer caso de apendicitis originada por gusanos intestinales, se han publicado numerosísimas memorias y observaciones de inflamaciones apendiculares causadas, principalmente, por *oxyurus* y *trichocephalus*. Hoy se ocupan ya de esta cuestión la mayoría de las parasitologías generales, por eso re-

mitimos á ellas á los lectores y les hacemos gracia de repeticiones que nos apartarían de la finalidad de esta modesta nota.

Hemos estudiado, investigando en su cavidad la presencia de parásitos intestinales, *cien apéndices* de enfermos del Hospital clínico de esta Facultad, que nos fueron cedidos por el Dr. Tello, jefe del departamento de autopsias clínicas del mismo, á quien, junto con su ayudante el doctor Arcaute, que nos ha facilitado todos los datos que nos han sido necesarios, nos complacemos en dar las gracias desde estas líneas.

Estos 100 enfermos habían muerto de muy distintas enfermedades médicas y quirúrgicas, con exclusión de la fiebre tifoidea y de la apendicitis. Todos eran adultos menos dos, y precisamente en los apéndices de éstos no encontramos ninguna clase de parásitos.

Hicimos la investigación de los gusanos abriendo la cavidad de los apéndices, extrayendo todos los detritus y heces que en ellos había y raspando luego su mucosa; todos los productos así obtenidos eran depositados en una placa de vidrio y buscábamos entre ellos, valiéndonos de dos agujas, primero á simple vista, luego con el binocular. En algunos, no en todos, llevamos más allá el estudio con el microscopio pára averiguar la presencia de huevos.

Entre los 100 apéndices encontramos seis parasitados.

1.º Contenía varios *oxyurus vermicularis* hembras y uno macho y huevos de *trichocephalus trichiurus*.

2.º (Correspondiente á la autopsia 321). Un *oxyuros* hembra. Tratábase de un hombre muerto de aneurisma de la aorta.

3.º (357). Un *oxyuros* hembra. Mujer muerta de nefritis y broncopneumonía.

4.º (363). Diez *oxyuros* hembras y dos machos. Además un gusano que no corresponde exactamente por sus caracteres á ninguno de los conocidos. Seguramente se tratará de un oxyurus macho deformado. Mujer con papiloma doble de ovario.

5.º (373). Cinco *oxyuros* hembras. Mujer con tuberculosis pulmonar é intestinal.

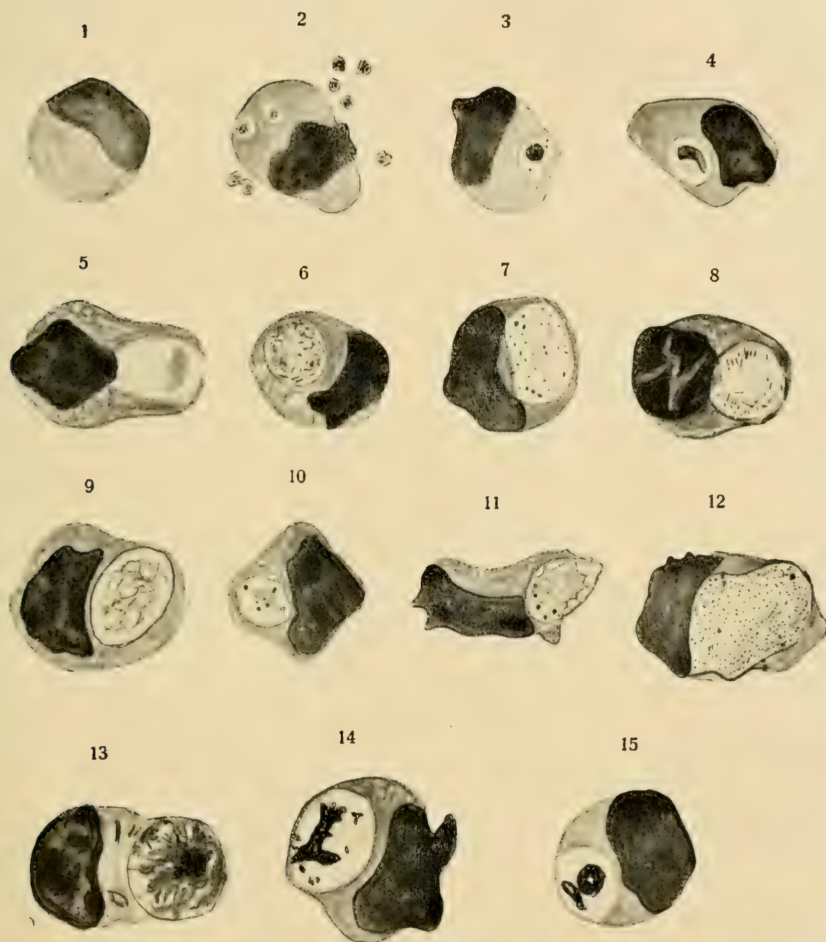
6.º (448). Dos *oxyuros* hembras. Mujer con peritonitis purulenta por flemón del ligamento ancho.

Por lo tanto, nuestra estadística da un 6 por 100 de apéndices parasitados en individuos *no muertos de apendicitis ni de fiebre tifoidea*.

Nos demuestra también que se presentan más en las mujeres que en los hombres.

En general son *oxyurus* los gusanos que se encuentran, pues no hemos hallado otros. Sólo en el caso primero pudimos dar con huevos de *trichocephalus*, pero nunca con adultos. No tiene esto nada de particular, por-

SADÍ DE BUEN.— **Nota preliminar al estudio sobre la morfología y significación de los** *Cuerpos de Kurloff-Demel* **de los mononucleares de la cavia.**



que el *oxyurus* vive sobre todo en el ciego y es muy natural que frecuentemente se le encuentre en el apéndice. Por eso Guiart cree que este gusano es el que produce más á menudo las lesiones de mucosa apendicular que sirven de puerta de entrada á los microbios que han de producir á su vez el ataque de apendicitis, tanto más cuando está plenamente demostrada por este mismo autor y por Weinberg, Brumpt, Galli-Valerio, Railliet y otros, la penetración del *oxyurus* en la mucosa apendicular.

Aun siendo el 6 por 100 una cifra que podríamos llamar mínima, pues siempre es posible que se nos haya escapado algún caso, revela una proporción bastante alta si se compara con las encontradas en París por Brumpt, del 3'5 al 4 por 100 en los adultos, y por Balland, que encontró sólo el 2'84.

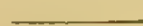
(Trabajo hecho en el Laboratorio de Parasitología bajo la dirección del Dr. Gustavo Pittaluga).



Evolución de los pies vasculares neuróglicos en los vertebrados

POR

N. ACHÚCARRO



Los pies vasculares, aparatos chupadores de Cajal, ó trompas vasculares de las células neuróglicas, son órganos bien conocidos desde Golgi y los investigadores con su método, Cajal, Andriezen, Retzius, etc. Este órgano neuróglico ha adquirido, sin embargo, especial importancia desde que Nageotte y más luego Marvas y yo mismo, hemos insistido acerca del papel de la neuroglia como glándula de secreción interna.

Indudablemente que en esta hipótesis el pie vascular desempeña un papel importantísimo, y es, en un cierto modo, el índice de las funciones de secreción vascular que tenga la neuroglia.

En tal concepto, y dado que tenemos en el método al oro de Cajal un medio muy seguro para teñir el aparato vascular neuróglico, se hace interesante averiguar cómo y cuándo se verifica en la serie de los vertebrados la formación de esta trompa ó pie vector índice de las relaciones de la neuroglia en los vasos.

Con este propósito, y sirviéndome también del método tanargéntico, he estudiado ejemplares de Amphioxus, de peces teleósteos (*Cyprinus Auratus y Labrax*), de rana, de lagarto, de pato y de jilguero.

Los resultados en el Amphioxus no han sido muy satisfactorios por lo inadecuado de la fijación (alcohol); sin embargo, he podido comprobar con el método del tanino lo conocido por las investigaciones de Müller, especialmente. Las células neuróglicas situadas alrededor del epéndimo envían sus prolongaciones hasta la periferia del tubo neural. No existiendo vasos en el tejido nervioso, no eran necesarias ulteriores pesquisas para nuestro problema.

En los peces teleósteos no hemos encontrado en ningún punto evidencia de pies ó trompas vasculares. La neuroglia es de tipo epitelial, más ó menos complicado, pues en el lóbulo óptico hemos podido distinguir dos sistemas superpuestos: uno ependimario, y otro perforante. El primero tiene en algunos puntos tal desarrollo, que hace pensar en la formación de una verdadera glándula ependimaria. Los vasos son abundantes, pero las prolongaciones ependimarias pasan sobre ellos sin contraer ninguna adherencia.

En los peces teleósteos hay varios puntos en que la neuroglia no es de tipo ependimario, sino que se halla separada en forma de células autónomas.

El ejemplo más evidente de esta disposición lo encontramos en la *válvula cerebelli* del Cyprinus. Aquí, muchas células rodean á los vasos y hasta las células nerviosas, pero no vemos nunca trompas vasculares.

En los batracios encontramos por primera vez el esbozo de la trompa vascular en forma de lo que llamo trompas de paso.

Sin que la gliotectónica encefálica haya cambiado esencialmente, es decir, continuando siendo ependimaria, vemos que al cruzar por encima de los vasos, las prolongaciones epiteliales forman unas dilataciones adherentes al vaso, y que luego se continúan hasta llegar á la superficie.

En el lagarto ya las trompas vasculares han adquirido mayor desarrollo; la neuroglia sigue siendo en gran parte ependimaria todavía; pero las prolongaciones epiteliales terminan muy frecuentemente sobre los vasos, por medio de verdaderas trompas vasculares, muy semejantes á las que vemos en los mamíferos y en el hombre. La relación de la neuroglia con los vasos está ya establecida, y en lo sucesivo, el desarrollo no hará sino multiplicar y estrechar estas relaciones.

Ya en las aves la evolución ha dado un paso gigantesco, pues no sólo la neuroglia es fundamentalmente de tipo autónomo, sino que las células se hallan adheridas á los vasos, formando forros protoplásmicos que algo recuerda á los que he descrito en el cerebro patológico del conejo inoculado con el esporotrico de Beurman. Existen, además, trompas vasculares semejantes á las que encontramos en los mamíferos.

La evolución de la neuroglia en la serie animal nos llevaría á conside-

rar á esta estructura como una glándula tubular en un principio, la cual vertería su contenido dentro del epéndimo, el cual, á su vez, en épocas primitivas de la evolución del Amphioxus, se hallaría en comunicación con el exterior.

En los peces sigue esta glándula tubular en un estado semejante, á pesar de la penetración de los vasos en el parénquima nervioso. Existen, además, lugares del epéndimo, especialmente desarrollado y con aspecto de epitelio glandular.

En los batracios se inicia la inserción del protoplasma en los vasos, y esta transformación de glándula tubular en glándula vascular sanguínea, se completa en fases ulteriores de la evolución con la intimidad de relaciones gliovasculares, que es creciente, y con la emigración de la neuroglia y atrofia de sus elementos ependimarios.

Esta evolución recuerda la de muchos órganos de secreción interna, como por ejemplo, el tiroides, que vertiendo su contenido en la faringe, en el Amphioxus (Widusheim), pierde toda relación con el tubo digestivo y se transforma en glándula cerrada. La forma de esta evolución favorece la hipótesis secretora vascular de la neuroglia, la cual, colocada así entre los elementos nerviosos y los vasos, debe cumplir no sólo funciones importantes respecto á la nutrición del parénquima nervioso, sino también alguna función específica del sistema nervioso central.

En otra comunicación expondremos nuestras ideas sobre este punto.



Estudios de bacteriologia y bacterioterapia del ozena

POR LOS DOCTORES

S. GARCÍA VICENTE Y P. MAYORAL

CON LA COLABORACIÓN DE LOS DOCTORES

R. LOBO, J. OLANO Y J. CHICOTE

Comenzamos nuestro trabajo investigando bacteriológicamente el exudado nasal de los enfermos de ozena, sirviéndonos del espejo frontal y espéculum, tomamos con el asa de platino una fracción del exudado que tapiza la mucosa por debajo de las costras, ó del moco que generalmente existe formando puente entre el cornete y el tabique nasal. Con el producto recogido extendemos *frotes* que al comienzo de nuestras investiga-

ciones examinábamos directamente, en vivo, tiñendo otros por los métodos de Ziehl, Gram y Giemsa, pero que después en vista de la uniformidad de resultados obtenidos sólo teñimos por el método de Gram, coloreando el fondo de la preparación con fuchina de Ziehl diluída.

Otras porciones del exudado las sembramos por diseminación mecánica en la superficie de tubos de agar y suero coagulado en posición inclinada, agar-sangre, agar con suero humano, y en caldo dispuesto en aero y anaerobiosis. Examinamos los cultivos á las veinticuatro y cuarenta y ocho horas de permanencia en la estufa á 37°, aislando y caracterizando las especies desarrolladas.

Hemos intentado inocular al conejo los gérmenes contenidos en el moco nasal de los enfermos cauterizando la mucosa del tabique de la nariz del animal con el asa de platino al rojo y embadurnando la cauterización con exudado de ozena.

Los primeros enfermos estudiados fueron tratados con autovacunas preparadas con todos los gérmenes contenidos en el exudado nasal del individuo en que había de emplearse. Estas vacunas contenían 100 millones de gérmenes por centímetro cúbico muertos por la acción del cloroformo y el calor á 55° durante treinta minutos. La esterilidad de las ampollas que contienen la vacuna la comprobamos por siembra en caldo, y su toxicidad por inyección al cobaya.

El tratamiento consistió en inyecciones subcutáneas practicadas cada tres, cuatro ó cinco días, á dosis variables según las condiciones del enfermo, y progresivamente crecientes en todos para obtener la máxima inmunización sin ocasionar graves molestias. Generalmente no se ha excedido la dosis de tres centímetros cúbicos inyectada de una sola vez, y se han practicado unas 10 inyecciones en cada enfermo.

No creemos necesario sobrepasar la citada dosis máxima, y de no observarse mejoría con 10 inyecciones es inútil insistir, pues de no estar mal preparada la vacuna, el fracaso se debe á que el enfermo por condiciones especiales no reacciona lo suficiente para producir el grado de inmunidad necesaria.

El resultado de los exámenes bacteriológicos realizados en enfermos de ozena, se resume en lo siguiente:

De 25 enfermos de ozena examinados, en 24 encontramos en gran cantidad tanto en los *frotes* de exudado como en los medios sólidos sembrados con él, dos especies bacterianas; el *Bacilo del ozena* (Bacterium ozaenal) de Loewenberg y Abel, perteneciente á la misma especie que el *pneumobacilo* y al *Bacillus lactis aerogenes*, y un bacilo del grupo pseudo-diftérico. (Corynebacterium pseudo-diphtheviticum. Hofmann-Willenhof).

ESTADO DE CUENTAS ENERO 1915 Á 30 DE JUNIO 1916.

Fechas.	CONCEPTOS	Pesetas.	Cts.	
	Existencia anterior			1.538
	Ingresos en el año 1915.			
Enero	65 recibos á 2 pesetas	130		
Febrero	71 ídem íd	142		
Marzo	65 ídem íd	130		
Abril	62 ídem íd	124		
Mayo	72 ídem íd	144		
Junio	61 ídem íd	122		
Julio	61 ídem íd	122		
Octubre	61 ídem íd	122		
Noviembre	59 ídem íd	118		
Diciembre	59 ídem íd	118		
	Pagado por una suscripción	10		
	Por 23 Boletines de la Sociedad	24		
	Ingresos en el año 1916.			
Enero	70 recibos á 2 pesetas	140		
Febrero	70 ídem íd	140		
Marzo	72 ídem íd	144		
Abril	72 ídem íd	144		
Mayo	72 ídem íd	144		
Junio	72 ídem íd	144		
	3 ídem de corresponsales	30		
	Total ingresos			2.190
	TOTAL			3.728

Fechas.	CONCEPTOS	Pesetas.	Cts.	
	Facturas pagadas el año 1915.			
	Por error de cuenta en la partida de cobradores en el balance anterior	100		
	Pagado al carpintero y pintor	47		
	Idem al Sr. Santamaría (por clichés)	30		
	Cobradores, doce meses y gratificación	380		
Abril	Pagado al Sr. Moya	313	50	
Julio	Idem íd	506		
	Idem al Colegio de Médicos	110		
	Idem al Sr. Cabello	60	50	
	Idem al encuadernador	3	50	
	19 recibos que se inutilizan	38		
	Facturas pagadas el año 1916.			
	Pagado al Sr. Cabello	10	50	
	Idem al Sr. Santamaría (por clichés)	69	67	
Abril	Idem al Sr. Moya	469	40	
	Idem al Colegio de Médicos	120		
	Cobradores	270		
	Correo, dieciocho meses	56		
	30 recibos sin cobrar	60		
	Importe total de gastos			2.644,07
	SALDO Á FAVOR DE LA SOCIEDAD			1.083,93
	TOTAL			3.728,00

V.º B.º
EL PRESIDENTE,
S. RAMÓN Y CAJAL.

EL CONTADOR,
FRANCISCO TELLO.

Muchos exudados nasales contienen gran número de leucocitos cuyo protoplasma está cargado de bacilos pseudo diftéricos fagocitados; el bacilo del ozena se encuentra muy pocas veces en el interior de los leucocitos.

Además de las citadas especies bacterianas, hemos encontrado otras cuya presencia en el exudado nasal no es constante; son las siguientes:

Pneumococo (Diplococcus pneumoniae A. Fränkel).	10 veces	en 25 enfermos,	ó sea el	40	por 100	de los casos.
Diplococcus catarrhalis (Micrococcus catarrhalis R. Pfeiffer)............	10	»	»	»	40	»	»
Estafilococo piógeno (Micrococcus pyogenes Rosenbach).............	9	»	»	»	36	»	»
Diplococcus crasus.......	3	»	»	»	12	»	»
Micrococcus tetragenes (Sarcina tetrágena Koch-Gaffky).............	1	»	»	»	4	»	»

En siete enfermos hemos encontrado por examen microscópico de la mucosidad nasal, un cocobacilo semejante al de Pérez, habiendo conseguido aislarle cinco veces.

Resulta que el «Cocobacillus foectidus ozenae» de F. Pérez lo hemos encontrado en el 28 por 100 de los enfermos. Quizá sea mayor el número de casos en que realmente exista dicha bacteria en el exudado nasal de los enfermos de ozena, y la razón de no encontrarla nosotros más veces, sea que en los primeros exámenes carecíamos del hábito necesario para descubrirla.

Creemos que el cocobacilo aislado por nosotros es la bacteria de F. Pérez, porque menos uno, reune los caracteres descritos por él.

Es un cocobacilo que no se tiñe por el Gram y carece de movilidad. Se cultiva bien á 37° en aero y anaerobiosis; no coagula la leche, no liquida la gelatina, ni fermenta la lactosa. Fermenta la urea.

Sembrado en caldo que contiene suero sanguíneo, da un olor semejante al de los enfermos de ozena, pero poco intenso.

En agar inclinado da abundante cultivo espeso, de bordes transparentes; en la patata el cultivo es parecido, de color amarillento, sin burbujas gaseosas.

Es patógeno para el conejo, pues la inyección intravenosa de un centímetro cúbico de cultivo de veinticuatro horas en caldo, lo mata por septicemia en un plazo de dos á tres días. En la sangre del corazón se encuentra después de la muerte el microbio inyectado.

No hemos podido comprobar la producción de rinitis en cuatro animales inoculados, y uno que por haber inyectado en las venas medio centímetro cúbico de cultivo sobrevivió un mes, no presentó alteración de las fosas nasales.

* * *

Vista la constancia con que se encuentra el bacilo del ozena y el pseudo-diftérico en la mucosa nasal de los ozenosos, estudiamos detenidamente los caracteres biológicos y culturales de algunas muestras de estos bacilos aisladas en distintos enfermos.

El bacilo del ozena (Bacterium ozenæ) es grueso, generalmente corto, de extremos redondeados, dispuesto casi siempre por parejas. Gram negativo, con cápsula en los productos patológicos y primeras generaciones en medio sólido, inmóvil, no esporula.

Anaerobio discrecional, se desarrolla bien en los medios de cultivo. En agar y suero da colonias grandes, salientes, viscosas. No liquida la gelatina, no produce indol.

Algunas muestras coagulan la leche, pero la mayoría no la coagulan; cosa semejante ocurre con los cultivos en patata, pues algunas semillas producen colonias con burbujas gaseosas como las del bacillus lactis aerogenes, mientras que la generalidad no las producen.

Los caracteres relatados son muy semejantes á los del pneumobacilo (Bacterium pneumoniæ, Friedländer) y bacillus lactis aerogenes (Bacterium acidi lactici. Süppe), por lo que la mayoría de los autores considera estas bacterias como pertenecientes á la misma especie.

Cozzolino asegura haber producido por inyección intravenosa del bacilo del ozena en el conejo, la rinitis atrófica; es decir, que ha obtenido una acción patógena igual que la que F. Pérez ha provocado inyectando al citado animal cultivos de su cocobacillus foetidus ozenæ. F. Pérez (1) afirma que los resultados de Cozzolino se deben al empleo inconsciente de cultivos impuros, que además del bacilo del ozena contenían su cocobacilos. Según Pérez, el bacilo del ozena es incapaz de producir las lesiones características de la enfermedad.

Nosotros hemos inyectado en las venas de los conejos 1 cent. cúb. de cultivo de veinticuatro horas en caldo del bacilo del ozena y no hemos observado la producción de rinitis aguda ni crónica.

El bacilo pseudo-diftérico (Corynebacterium pseudo-diphtheriticum, Hofmann-Willenhof), aislado en los enfermos de ozena, toma el Gram; pero en algunas muestras es Gram negativo con granos Gram positivos contenidos en el espesor del bacilo. De extremos redondeados y desigual

(1) *Annales de l'Institut Pasteur*, pág. 409, 1901.

grosor, se agrupa, generalmente, en forma de empalizadas. Su longitud es muy variable en las distintas muestras.

Es inmóvil, tiene corpúsculos polares como los del bacilo diftérico.

Anaerobio discrecional, se desarrolla bien en los medios de cultivo ordinarios, y sus colonias tienen iguales caracteres que las del bacilo diftérico.

No coagula la leche, no liquida la gelatina, no produce indol.

No es tóxico; 2 cent. cúb. de cultivo de veinticuatro horas en caldo, inyectado en el tejido celular subcutáneo de un cobaya de 250 gramos de peso, no produce alteración ostensible.

Sometido á la acción aglutinante de suero antidiftérico, obtenido de modo que el animal productor haya sufrido la inyección de cuerpos bacterianos, no se aglutina al 1:25, 1:50 y 1:100.

Hemos preparado una vacuna mixta y polivalente con varias muestras de bacilo del ozena, bacilo pseudo-diftérico y cocobacilo de Pérez; para ello sembramos las semillas en caldo dispuesto en aero y anaerobiosis y, después de veinticuatro horas de cultivo á 37°, comprobamos la pureza de los cultivos y se matan los gérmenes con cloroformo.

Se mezcla el contenido de los distintos matraces de cultivo, se dosifica la vacuna de modo que contenga 250 millones de gérmenes por centímetro cúbico y se reparte en ampollas que se cierran á la lámpara y calientan á 55° durante media hora.

Antes de emplear la vacuna se comprueba la muerte de los gérmenes, sembrando en caldo aerobio y anaerobio el contenido de varias ampollas, y se tantea la toxicidad inyectando 2 cent. cúb. de vacuna en el tejido celular subcutáneo de un cobaya de 250 gramos de peso. El animal no debe presentar alteración general ni local ostensible, después de la inyección de vacuna.

Esta vacuna polivalente y mixta contra el ozena, se emplea en inyección subcutánea cada dos, tres ó cuatro días, según lo que tardan en desaparecer los fenómenos reaccionales consecutivos á cada inyección, y aconsejamos la siguiente marcha de inmunización:

1.ª inyección	....	0'3 cent. cúb.
2.ª »	....	0'5 »
3.ª »	....	0'7 »
4.ª »	....	1'0 »
5.ª »	....	1'5 »
6.ª »	....	2'0 »
7.ª »	....	2'5 »
8.ª »	....	3'0 »

No conviene exceder la última dosis, que puede repetirse.

Cuando una inyección produzca reacción local muy molesta ó elevación de la temperatura superior á 38°, no se aumentará la dosis en la inyección siguiente; se repetirá la que produjo excesiva reacción, continuando después el ascenso progresivo.

Si por cualquier circunstancia transcurrieran más de quince días después de una inyección y se quisiera reanudar el tratamiento, para evitar accidentes anafilácticos se inyectará la mitad de la primera dosis, continuando luego la marcha ordinaria de inmunización.

Los enfermos se han tratado simultáneamente con lavados de la nariz hechos con disolución fisiológica de cloruro sódico, pues la inmunización activa es perfectamente compatible con los tratamientos locales que la experiencia ha consagrado.

De 25 enfermos estudiados hay que separar 9; 5 por haber desaparecido antes de recibir las inyecciones necesarias para poder juzgar, y 4 por encontrarse al comienzo del tratamiento. Entre 16 que han recibido suficiente número de inyecciones, tenemos:

Curaciones	5
Mejorías	7
Fracasos	4

Este resultado total hay que descomponerlo en dos parciales por la clase de vacuna empleada, según que hayan sido tratados con autovacunas ó vacuna polivalente.

La vacuna polivalente se ha empleado en 16 enfermos, de los que hay que deducir 8 por desconocer el resultado del tratamiento. Entre los 8 cuya observación está completa, tenemos:

Curaciones	1
Mejorías	4
Fracasos	3

Con vacunas autógenas se han tratado 11 individuos, en 2 de los cuales se había empleado sin éxito la vacuna polivalente. Los 11 casos quedan reducidos á 9 por lo que se refiere al resultado, pues 2 no se han seguido durante tiempo suficiente; entre 9, hemos obtenido:

Curaciones	4
Mejorías	3
Fracasos	2

Con vacunas autógenas hemos obtenido mayor número de éxitos que con la polivalente, y un caso en que había fracasado ésta, el enfermo mejoró considerablemente con la autógena.

La ventaja de las vacunas autógenas sobre la polivalente está en que

contienen *todos* los gérmenes que se encuentran en el exudado nasal, y que en cierta medida intervienen en el proceso; la vacuna polivalente contiene las tres bacterias cuya importancia etiológica parece mayor, pero muy pocas veces se encuentran solas.

El resultado terapéutico alcanzado con las vacunas autógenas y polivalentes es muy satisfactorio, pues no hay que olvidar que la enfermedad es eminentemente crónica y rebelde contra todo tratamiento. Mientras que otra cosa demuestren los hechos, aconsejamos la bacterioterapia en el ozena, y teniendo presente que las vacunas autógenas no siempre evitan los fracasos y son de más costosa aplicación que la polivalente, creemos que lo práctico es comenzar el tratamiento con ésta. Si después de practicar siete ú ocho inyecciones no hay mejoría, se recurrirá á la preparación y aplicación correcta de la vacuna autógena.

Debemos consignar que en algunos enfermos curados bajo el punto de vista clínico, persiste en el moco nasal el bacilo del ozena y el pseudodiftérico. Además, fáltanos saber el curso ulterior de los enfermos mejorados y curados, pues pudiera ocurrir que el individuo perdiera la inmunidad artificialmente adquirida con la vacunación, y de nuevo prosperarán en la mucosa nasal los gérmenes causantes del proceso.

Si tal contingencia se presentase, estará indicada otra cura con vacuna polivalente, ó mejor, autógena.



La constancia con que se encuentra en los enfermos de ozena el bacilo de Abel y el bacilo pseudo-diftérico, la importancia de los trabajos del Dr. F. Pérez, comprobados por Hofer (1) y en parte también por nosotros, y la mejoría observada en los enfermos tratados con nuestra vacuna polivalente, inclinan á creer en la patogenia específica de la enfermedad.

Deseando reunir mayor número de datos que permitan formar juicio exacto sobre tan importante cuestión, hemos investigado si el suero de la sangre de los enfermos de ozena aglutina el bacilo pseudo-diftérico, el del ozena y el cocobacilo de F. Pérez.

El suero de la sangre de cuatro enfermos, separado veinticuatro horas después de extraída por punción venosa, no aglutinó en dilución al 1 : 25 y 1 : 50 á las bacterias citadas. Este resultado negativo no invalida la posibilidad de que el ozena sea una enfermedad específica y causada por alguno ó todos los gérmenes sometidos á la aglutinación, pues tratándose

(1) Etiología y tratamiento del ozena. 66° Congreso anual de la «American Medical Association».

de una infección eminentemente local, no es extraño que el organismo no contenga anticuerpos en cantidad demostrable. Además, los bacilos con cápsula á cuyo grupo pertenece el bacilo del ozena y quizá también el cocobacilo de Pérez, son difícilmente aglutinables.

En vista del anterior resultado, nos dedicamos á estudiar el exudado nasal de personas sanas y enfermas de la nariz que padecían enfermedades distintas de la *rinitis fétida atrófica:* la técnica empleada ha sido la misma que nos sirvió para el estudio bacteriológico de los enfermos de ozena.

En 13 personas sanas hemos encontrado, por examen microscópico del exudado nasal y por el método de los cultivos, las siguientes bacterias:

Bacilo pseudo-diftérico (Corynebacterium pseudo-diphtheriticum)............	8	veces,	ó sea	el	61'5	por 100 casos.
Diplococcus crassus................	6	»	»		46'1	»
Pneumococo (Diplococcus pneumoniæ A. Fränkel)......................	5	»	»		38'4	»
Diplococcus catarrhalis (R. Pfeiffer)...	5	»	»		38'4	»
Bacilo del ozena (Bacterium ozenæ Abel)............................	4	»	»		30'7	»
Bacilo coli (Bacterium coli Escherich)..	4	»	»		30'7	»
Estafilococo (Micrococcus pyogenes (Rosenbach).........................	2	»	»		16'9	»
Bacterium fluorescens (Lehman y Neumann).........................	1	»	»		7'6	»

El cocobacilo de Pérez no lo hemos encontrado en la nariz de personas sanas.

En nueve enfermos de la nariz, no ozenosos, hemos encontrado:

Bacilo pseudo-diftérico...	5	veces, ó sea el	55'5	por 100	casos.
Pneumococo...........	5	»	» 55'5		»
Bacilo del ozena........	4	»	» 44'4		»
Estafilococo............	4	»	» 44'4		»
Diplococcus catarrhalis..	3	»	» 33'3		»
Diplococcus crassus.....	3	»	» 33'3		»
Bacilo de Pfeifer (Bacterium influenzæ).......	2	»	» 22'2		»

En un enfermo encontramos por examen microscópico un cocobacilo semejante al de F. Pérez, pero no podemos asegurar que lo fuera por no haberle podido aislar y caracterizar.

En tres enfermos, en cuyo exudado nasal se encontró el bacilo del ozena y el pseudo-diftérico, no tenían fetidez; esta ausencia de fetidez no puede atribuirse al tratamiento, pues no practicaban lavados nasales cuan-

do fueron examinados. Las costras nasales de dos de estos enfermos contenían los citados gérmenes en proporción igual ó superior que los enfermos de ozena típico.

Cuatro enfermos padecían hipersecreción nasal sin retención; en el exudado se encontraron muy pocos gérmenes, menos que en muchas personas sanas.

Si comparamos la flora bacteriana de los enfermos de ozena, de los sanos y de los enfermos de la nariz no ozenosos, resulta que en los primeros se encuentra constantemente el bacilo del ozena y el pseudo-diftérico. Decimos constantemente, á pesar de que en un enfermo no encontramos estas bacterias en dos exámenes; pues la circunstancia de haber curado con vacuna polivalente que no contenía el estafilococo, único germen que se encontró, hace creer que aquellas bacterias existían en sitio ó cantidad que nos impidió encontrarlas.

El bacilo del ozena y el pseudo-diftérico se encuentran en la mitad de las personas sanas y enfermos no ozenosos, y las dos bacterias juntas, como en el ozena, en un tercio de los casos examinados.

El cocobacilo de Pérez se encuentra en el 28 por 100 de los enfermos de ozena, y no lo hemos aislado en los sanos y enfermos no ozenosos.

El pneumococo se encuentra próximamente en la mitad de los individuos, sanos ó enfermos.

El diplococcus catarrhalis, el crassus y el estafilococo, existen frecuentemente en la nariz de enfermos y sanos; los bacilos coli, fluorescens y de Pfeiffer, y el micrococcus tetragenos, se encuentran pocas veces en relación con las especies antes enumeradas.

De los precedentes datos resulta que si los bacilos pseudo-diftérico y del ozena existen abundantes en los exudados de la rinitis atrófica fétida, su presencia en el moco nasal no basta para que la enfermedad se produzca. El cocobacilo de Pérez sí que parece ser una especie propia del ozena, pero no se encuentra en todos los casos y sus caracteres le diferencian poco del bacilo de Abel, por lo que bien pudiera ser una variedad del bacilo del ozena.

La inconstancia de las demás bacterias que hemos visto en el exudado de ozena demuestran que no tienen esencial importancia en la patogenia de la enfermedad.

En el curso de este trabajo se ha dicho que hemos intentado transmitir la enfermedad al conejo por inyección intravenosa de cultivos puros del cocobacilo de Pérez y de bacilo del ozena; habiendo sido negativo el resultado, no habiendo podido reproducir la enfermedad, como Pérez y Cozzolino, no aceptamos las radicales conclusiones de dichos autores.

La inoculación de exudado de ozena y cultivo mixto de bacilos del oze-

na y pseudo-diftérico en la fosa nasal del conejo, previa cauterización, no ha producido lesiones características ni la persistencia de las bacterias sembradas en el moco nasal del animal.

La experimentación en los monos antropoides quizá permita resolver el problema de la transmisión experimental del ozena, pero nuestros medios no nos han permitido realizar esta observación.

(Sección de «Vacunas bacterianas y epidemiología» del Laboratorio Municipal de Madrid. Servicio municipal de Laringologia).



Acción inhibitoria del cloruro sódico sobre la pepsina

POR

TOMÁS ALDAY Y REDONNET

La digestión péptica sufre alteraciones en su actividad por la acción de diversos agentes; entre ellos se encuentran las sales metálicas, que tienen una acción inhibitoria bastante marcada sobre la pepsina, salvo raras excepciones (ClK en la digestión de la fibrina). Esta inhibición ha sido estudiada experimentalmente por Pfleiderer (1) con las sales sulfúricas; Pawlow y Parastschuk (2) con el cloruro, acetato y salicilato sódico; Schütz (3) y Levites (4) con diversas sales metálicas; y más recientemente por Hamburger (5) con el ClNa. A estos trabajos debemos añadir los llevados á cabo en el Laboratorio de Danilewsky referentes á la inhibición producida por el fosfato sódico.

Para el estudio de la acción de estos diferentes cuerpos sobre la pepsina se han empleado diversos métodos: así Pfleiderer y Hamburger emplean el de Grützner; Levites y los investigadores del Laboratorio de Danilewsky determinan por el método de Kjeldahl el nitrógeno total, procedimiento que también empleó Hamburger en siete experimentos;

(1) *Pfleiderer: Pflügers Arch.*, 66, 1897, citado por Levites.

(2) *S. P. Pawlow u. S. W. Parastschuk:* Ueber die ein und demselben Eiweissfermente zukommenden proteolytische und milchkoagulierende Wirkung verschiedener Verdaungssäfte. *Zeit. f. phy. Ch.*, 42, 415-453, 1911.

(3) *Schütz: Beit. z. chem. Phy. u. Path.*, V, 406, 1904, citado por Hamburger.

(4) *S. Levites:* Ueber dem Einfluss neutraler Salze auf die peptische Spaltung des Eiweisses. *Zeit. f. phy Ch.*, 48, 187-191, 1906.

(5) *W. W. Hamburger:* The inactivation of pepsin bysodium chlorid: its clinical significance *The Archives of internal Medicine*, 16, 3, 356. Chicago, 1915.—A chemiobiological Study of the relations of pepsin to so-called anti-pepsin. *The Jour. of cap. Med*, XIX, 585-549, 1911.

Pawlow y Parastschuk determinan las unidades pépsicas, siguiendo el método de Mett; nuestros experimentos han sido realizados con este último según la técnica recomendada por Christiansen (1).

La inhibición producida por el cloruro sódico es la más interesante por encontrarse este cuerpo normalmente en el contenido gástrico, en mayor ó menor cantidad según el régimen alimenticio.

Si bien en los individuos normales esta acción carece de importancia, no ocurre así en aquellos en los que la cantidad de pepsina está disminuída ó en los que, aunque ésta se halle aumentada, los cloruros del contenido gástrico también lo están debido al tratamiento alcalino.

Nuestros experimentos han sido realizados con pepsinas comerciales (Armours y Witte) y con jugos gástricos humanos; los expondremos á continuación, así como las conclusiones que de ellos hemos deducido.

A) Experimentos practicados con pepsinas comerciales:

1.° Una serie de matraces de Erlenmayer, de 50 cent. cúb. de cabida, fueron numerados correlativamente del 1 al 20 é introducidos en ellos 2 cent. cúb. de la disolución de pepsina (Armours) al 2 por 100 en ClH n/10. A continuación se les añadió, salvo al primero, unas gotas de ClNa á saturación (aproximadamente al 33 por 100), del modo siguiente: I al segundo, II al tercero y así sucesivamente hasta el último, en el que se pusieron XIX. Con objeto de que en cada matraz existiese la misma cantidad de líquido, se introdujo en cada uno cierto número de gotas de agua destilada: XX al primero, XIX al segundo y así hasta el último, en que sólo se puso I; mas como los 3 cent. cúb. que aproximadamente contenía cada matraz no eran cantidad suficiente para cubrir por completo los tubos de Mett que poníamos á digerir, hubo necesidad de añadir á cada uno 5 cent. cúb. de ClH n/10. Después de haber puesto en cada matraz un tubo de Mett, de 20 milímetros de longitud, se llevaron todos á la estufa á 37°, donde permanecieron por espacio de veinticuatro horas, pasadas las cuales se midió la longitud de la columna de albúmina digerida y se obtuvieron las unidades pépticas según la ley de Schütz-Borissow (2).

Los resultados fueron los siguientes:

(1) *J. Christiansen:* Einige Bemerkungen über die Mett'sche Methode nebst Versuche über das Aciditätsoptimum der Pepsinwirkung. *Bioch. Zeit.*, 46, 557-287, 1912.

(2) *E. Schütz:* Einige Methode zur Bestimmung der relativen Pepsinmengen. *Zeit. f. phy. Ch.*, 9, 577-590, 1885.

TABLA I

Matraz......	Pepsina al 2 por 100 (cent. cúb.)	ClNa al 33 por 100 (gotas)...	H_2O destilada (gotas)......	ClH n/10 (cent. cúb.)......	Cantidad total de líquido. ..	Acidez libre por 1.000....	Cloruros añadidos por 100...	Unidades Mett obtenidas. ..
1	2	0	XX	5	8	3	0'00	56'25
2	2	I	XIX	5	8	3	2'34	32'25
3	2	II	XVIII	5	8	3	4'68	20'25
4	2	III	XVII	5	8	3	7'02	15'49
5	2	IV	XVI	5	8	3	9'36	11'50
6	2	V	XV	5	8	3	11'70	10'04
7	2	VI	XIV	5	8	3	14'04	9'56
8	2	VII	XIII	5	8	3	16'38	9'00 (1)
9	2	VIII	XII	5	8	3	18'72	8'41
10	2	IX	XI	5	8	3	21'06	7'29
11	2	X	X	5	8	3	23'40	6'25
12	2	XI	IX	5	8	3	25'74	5'29
13	2	XII	VIII	5	8	3	28'08	4'84
14	2	XIII	VII	5	8	3	30'42	4'42
15	2	XIV	VI	5	8	3	32'76	4'00
16	2	XV	V	5	8	3	35'10	3'24
17	2	XVI	IV	5	8	3	37'44	3'00
18	2	XVII	III	5	8	3	39'78	2'56
19	2	XVIII	II	5	8	3	42'12	2'00
20	2	XIX	I	5	8	3	44'46	1'69

2.° Otro experimento se hizo agregando muy pequeñas cantidades de ClNa, con el fin de observar la acción de éste á pequeñas concentraciones. Se siguió la misma técnica que en el anterior, obteniéndose los siguientes resultados:

(1) A partir de este matraz, la superficie de digestión de la columna de albúmina no es completamente plana.

TABLA II

Matraz.....	Pepsina al 2 por 100 (cent. cúb.)	ClNa al 5 por 100 (gotas)...	H_2O destilada (gotas)......	ClH n/10 (cent. cúb.)......	Cantidad total de líquido....	Acidez libre por 1.000.......	Cloruros añadidos por 100.	Unidades Mett obtenidas....
1	2	0	XX	5	8	3	0'00	56'25
2	2	I	XIX	5	8	3	0'32	54'76
3	2	II	XVIII	5	8	3	0'64	47'61
4	2	III	XVII	5	8	3	0'96	46'24
5	2	IV	XVI	5	8	3	1'28	43'56
6	2	V	XV	5	8	3	1'60	42'25
7	2	VI	XIV	5	8	3	1'92	40'96
8	2	VII	XIII	5	8	3	2'24	36'00
9	2	VIII	XII	5	8	3	2'56	31'36
10	2	IX	XI	5	8	3	2'88	30'25
11	2	X	X	5	8	3	3'20	29'16
12	2	XI	IX	5	8	3	3'52	24'01
13	2	XII	VIII	5	8	3	3'84	23'04
14	2	XIII	VII	5	8	3	4'16	22'09
15	2	XIV	VI	5	8	3	4'48	21'16
16	2	XV	V	5	8	3	4'80	19'36
17	2	XVI	IV	5	8	3	5'12	18'49
18	2	XVII	III	5	8	3	5'44	17'64
19	2	XVIII	II	5	8	3	5'76	16'81
20	2	XIX	I	5	8	3	6'08	16'00

3.° Con objeto de observar si varía la acción inhibidora de una determinada cantidad de ClNa en concentraciones diferentes de pepsina, practicamos el siguiente experimento:

Con 20 matraces iguales á los empleados en los experimentos anteriores se hicieron cuatro grupos: en el primero se pusieron 10 cent. cúb. de la disolución de pepsina (Witte) al 10 por 1.000 en ClH n/10; en el segundo grupo la concentración de la pepsina fué al 5 por 1.000; en el tercero, al 2 por 1.000; en el cuarto y último, al 1 por 1.000. Al matraz primero de cada grupo no se le añadió ClNa; al segundo se le puso I gota de la disolución de ClNa á saturación; en el tercero se pusieron II gotas; V en el cuarto; y, por último, X en el quinto matraz de cada grupo. Poniendo en cada uno de estos matraces dos tubos de Mett, de 20 milímetros de longitud, fueron llevados á la estufa á 36°, donde permanecieron por espacio de veinte horas, pasadas las cuales obtuvimos los siguientes resultados:

TABLA III

Grupo.	Matraz.	Pepsina en ClH n/10. — Cent. cúb.	Concentración de la pepsina. — Por 100.	ClNa al 33 por 100. — Gotas.	Cloruros añadidos por 100.	Unidades Mett obtenidas.
1.°	1	10	10	0	0'00	23'50
	2	10	»	I	1'90	22'00
	3	10	»	II	3'80	17'00
	4	10	»	VII	9'50	8'00
	5	10	»	X	19'00	7'00 (1)
2.°	1	10	5	0	0'00	20'25
	2	10	»	I	1'90	19'00
	3	10	»	II	3'80	16'00
	4	10	»	V	9'50	6'00
	5	10	»	X	19'00	4'00 (1)
3.°	1	10	2	0	0'00	12'25
	2	10	»	I	1'90	11'90
	3	10	»	II	3'80	9'00
	4	10	»	V	9'50	4'00
	5	10	»	X	19'00	2'25 (1)
4.°	1	10	1	0	0'00	6'25
	2	10	»	I	1'90	5'40
	3	10	»	II	3'80	5'00
	4	10	»	V	9'50	2'30
	5	10	»	X	19'00	1'00 (1)

B) Experimentos realizados con jugos gástricos humanos:

En cinco matraces se pusieron en cada uno 10 cent. cúb. de jugo gástrico; en uno de ellos, que nos sirvió de testigo, no se añadió ClNa; mas en los cuatro restantes se pusieron I, II, V, X gotas de la disolución de ClNa á saturación, respectivamente. Después se agregaron á cada matraz dos tubos de Mett y se llevaron á la estufa á 37°, donde permanecieron por espacio de veinticuatro horas. Este experimento, practicado nueve veces, nos dió los resultados expuestos en la tabla IV.

(1) La superficie de digestión de la columna de albúmina no es plana.

TABLA IV

OBSERVACIÓN	Cantidad de jugo gástrico (c. c.)	Unidades Mett obtenidas	+ I gota de ClNa al 33 por 100. Cloruros por mil	Unidades Mett obtenidas	+ II gotas de ClNa al 33 por 100. Cloruros por mil	Unidades Mett obtenidas	+ V gotas de ClNa al 33 por 100. Cloruros por mil	Unidades Mett obtenidas	+ X gotas de ClNa al 33 por 100. Cloruros por mil	Unidades Mett obtenidas	DIAGNÓSTICO
1.ª	10	45'00	1'9	39'00	3'8	27'00	9'5	11'00	19·00	5'00	Estenosis pilórica.
2.ª	»	37'00	»	35'00	»	26'00	»	12'00	»	9'00	Hiperclorhidria.
3.ª	»	68'00	»	49'00	»	37'00	»	12'00	»	9'00	Ulcera gástrica.
4.ª	»	9'00	»	8'00	»	7'5	»	5'00	»	3'00	Cáncer gástrico.
5.ª	»	90'00	»	49'00	»	34'00	»	19'00	»	12'00	Estenosis pilórica gastrosucorrea.
6.ª	»	20'00	»	14'00	»	12'00	»	9'00	»	5'00	Gastritis crónica.
7.ª	»	21'00	»	18'00	»	16'00	»	13'00	»	11'00	Hiperclorhidria.
8.ª	»	26'00	»	20'00	»	13'00	»	10'00	»	9'00	Estenosis pilórica y gastritis.
9.ª	»	60'00	»	56'00	»	50'00	»	20'00	»	14'00	Estenosis pilórica y gastrosucorrea.

CONCLUSIONES

De los experimentos realizados, referentes al estudio de la inhibición del ClNa sobre la pepsina, deducimos:

1.° El ClNa, aun á pequeñas concentraciones (0'3 por 100), produce inhibición sobre la pepsina (experimento segundo).

2.° La inhibición aumenta á medida que crece la cantidad de cloruros (experimentos primero y segundo).

3.° En los jugos artificiales obtenidos con pepsinas del comercio la inhibición es aproximadamente proporcional á la cantidad de pepsina (experimento tercero).

4.° En los jugos de enfermos del aparato digestivo la inhibición no es proporcional á la cantidad de pepsina, probablemente por sumarse á la producida por el ClNa la de otras substancias inhibitorias (peptonas, mucina, etc.) que existen en mayor ó menor cantidad en el contenido gástrico (tabla IV).

(Trabajo del Laboratorio de Terapéutica y de la Consulta de enfermedades del aparato digestivo de la Facultad de Medicina de Madrid).

Sobre la naturaleza de las células epifisarias

POR

P. DEL RÍQ HORTEGA

La estructura de la glándula pineal, conarium ó epífisis, ha merecido en estos últimos años una especial atención de los histólogos, que no acaban de comprender exactamente la constitución de este órgano enigmático, que de tan varia manera ha sido considerado á través de los tiempos.

Entre la idea de Descartes, que hacía de la epífisis la residencia del alma, y la de Magendie, que la atribuyó un prosaico papel de tapón, hay toda una serie de hipótesis que la convierten en un ganglio nervioso ó en una glándula vascular sanguínea (1).

Desde el punto de vista histológico, el conocimiento de la pineal ha dado últimamente un gran paso, gracias á los trabajos de Dimitrowa, Cionini, Achúcarro, Sacristán, Walter y Krabbe.

En sus interesantes investigaciones han demostrado Achúcarro y Sacristán un conjunto de detalles histológicos de gran importancia, y han puesto en claro muchas dudas respecto á la naturaleza de algunas células de las que integran á la epífisis. Así, estos autores demuestran de modo evidente la presencia de células nerviosas con neurofibrillas, que por lo demás, habían sido ya descritas por Cajal en el conarium del ratón y sospechadas por Hagemann y Henle, y aun por Cionini y Zancla.

Confirman y amplían Achúcarro y Sacristán las descripciones de Dimitrowa sobre células y fibras neuróglicas, y prueban que muchos detalles histológicos, estimados por los autores como expresión del carácter glandular de las células epifisarias, como las bolas de Dimitrowa, no son otra cosa que fenómenos regresivos.

Conocida es la gran intensidad que alcanzan en la epífisis las alteraciones regresivas, que se localizan en gran número de elementos: células nerviosas, neuróglicas y lobulillares; fibras de neuroglia y conectivas, etc. A estos fenómenos involutivos se deben ciertamente muchas formaciones que enmascaran el verdadero carácter celular y han sido fuente de errores para los histólogos.

(1) Sabido es que la idea de que la epífisis representa un órgano sensorial atrófico (el llamado *ojo pineal* de los lacértidos), está totalmente abandonada.

Tenemos, sin embargo, al presente, como datos seguros respecto al contenido celular de la glándula pineal: 1.°, que existen células nerviosas con las interesantes disposiciones dendríticas observadas por Sacristán y Achúcarro; 2.°, que existen abundantes células neuróglicas y abundantísimas fibras, y 3.°, que existen células propias del tejido conectivo: pigmentarias, mastzellen y células plasmáticas.

Pero además de estos elementos, distínguense otros mucho más abundantes, que pueden calificarse de propios de la epífisis, cuya naturaleza nos es desconocida y que en parte deben corresponder á los dos tipos celulares descritos por *Bizzozero* (nervioso y conectivo) y á las distintas clases de corpúsculos mencionados por los autores, tales como las células con granulaciones acidófilas tingibles por el método de Altmann, descritas por Constantini; las células con inclusiones protoplásmicas, mencionadas por Cutore; las perivasculares de núcleo acidófilo, de Galasescu y Urechia; las de núcleo fuchinófilo de aspecto epitelial, de Sarteschi, etc.; es decir, al conjunto de células lobulillares tan bien descritas por Achúcarro y Sacristán, los cuales reconocen que la mayoría de los núcleos de las cuatro clases observadas por Dimitrowa, presentan caracteres que permiten agrupar las células á que pertenecen en una sola y única categoría.

El objeto de esta nota es demostrar la identidad de estos distintos tipos celulares y hacer una conjetura sobre su naturaleza. Nuestras observaciones son hasta ahora escasas, y se refieren á pineales de individuos de edad avanzada y á la de un niño con tumor cerebeloso.

Mediante el método de Achúcarro bien logrado, limpias las preparaciones de toda clase de precipitados y con las células y fibras neuróglicas teñidas en su totalidad, se distingue en las células lobulillares de la epífisis una formación protoplásmica especial, que hasta hoy no ha sido mencionada. Trátase (fig. 1) de ciertos filamentos de mayor ó menor longitud y de ciertos granos, yacentes en la proximidad del núcleo, tocándole á veces y recubriéndole en parte. Estos filamentos recuerdan mucho por su disposición al aparato de Golgi, con el que nada tienen de común, puesto que este aparato jamás se colorea por el método de Achúcarro.

Cada célula consta de un número variable de hilitos, que oscila entre uno á ocho y de uno á seis granitos próximos á los filamentos. Estos son rígidos y gruesos y yacen en el protoplasma, cerca del núcleo, adoptando las más variadas disposiciones: en aspa, en estrella, en haz, etc. Los más largos de estos hilos son los que más se acercan al núcleo, sobre el cual se incurvan á veces; pero en bastantes elementos conservan una dirección rectilínea y atraviesan el protoplasma tangencialmente al núcleo. Con gran frecuencia son de espesor uniforme, pero no es raro que posean

abultamientos en forma de huso ó de maza ó que sus extremos sean puntiagudos. En la pineal de niño que hemos observado (cuya anormalidad es evidente), aparecen muy á menudo los filamentos protoplásmicos de aspecto moniliforme y como formados por una alineación de granitos unidos por partes más delgadas.

La característica de estas formaciones es la variabilidad de disposición, la proximidad al núcleo y la constancia con que aparecen en todas las células de los lóbulos, lo mismo en las perivasculares que en las más alejadas de los vasos, sea cualquiera su forma, redondeada, alargada, poliédrica ó estrellada. No se exceptúan las células netamente neuróglicas (fig. 1, A y B), puesto que solamente en las que ofrecen un tipo fibroso fasciculado, deja de observarse algún bastoncito yuxtanuclear. En las restantes existe uno, dos ó más, pero siempre más cortos que los que poseen las células parenquimatosas. Por lo demás, entre estas células y las neuróglicas, hay aspectos de transición en lo que á los filamentos que estudiamos se refiere.

Hemos pensado sobre la naturaleza de estos bastoncitos y gránulos, y solamente podemos interpretarlos de dos maneras: como filamentos ergastoplásmicos y granos de secreción ó como centriolos modificados regresivamente. Eliminamos la primera hipótesis por estimar que ni el grosor de los hilos, ni la rigidez que poseen, ni la situación vecina al núcleo, son propios de los filamentos de ergastoplasma, cuyo aspecto, cuando se colorean con el método de Achúcarro, es muy diferente. Nos quedamos, pues, con la hipótesis de que se trata de una suerte de centriolos, derivación de los blefaroplastos de las células ependimarias.

En recientes estudios sobre la patología del epéndimo hemos seguido las modificaciones que sufren las células ependimarias cuando emigran al interior del tejido nervioso y se alteran en grado mayor ó menor, y tienden á transformarse en células neuróglicas.

Como es sabido desde los estudios de Studnicka principalmente, las células del epéndimo están guarnecidas de un manojo de pestañas implantadas en la parte central de la superficie, sobre un grupo de corpúsculos (blefaroplastos) reunidos en colonia (figs. 3 y 4, A). Pues bien; cuando estas células dejan de ser superficiales y pierden sus flagelos, los blefaroplastos emigran al interior del protoplasma, se aproximan al núcleo y tienden á alargarse y á reducir su número. Así, de 30 á 40 granitos que poseen las células superficiales, solamente conservan cuatro á ocho los elementos emigrados y en metamorfosis neuróglica, en los que dichos granitos han adquirido forma baciloide (figs. 3, B y 4, B, F, G). Las células así modificadas recuerdan extraordinariamente á las epifisarias.

En la epífisis misma, entre el epitelio ependimario que reviste la por-

ción ventricular de la glándula y las células parenquimatosas, pueden observarse las distintas fases porque atraviesan los blefaroplastos hasta convertirse en filamentos. Vése, primeramente, que las células del epéndimo pineal exhiben su colonia de microsomas cerca del núcleo, del mismo modo que las del epéndimo ventricular (fig. 3); después, que los elementos subyacentes al epitelio ependimario (células aisladas, envueltas por multitud de fibras neuróglicas), en parte, conservan el típico montoncito de microsomas ó blefaroplastos, exactamente como en las células superficiales, y en parte (las más profundas), muestran ya una reducción del número de cuerpecitos y un mayor ó menor alargamiento de ellos; finalmente, en las células propias de la pineal, todos los blefaroplastos se han convertido en bastoncitos yuxtanucleares, con los diferentes aspectos mencionados.

Tenemos, pues, como cosa probabilísima, por no decir que segura, que la casi totalidad de las células de la glándula pineal (exceptuados los elementos nerviosos, neuróglicos típicos y conectivos) conserva el sello de su naturaleza ependimaria, y que al igual que las células del epéndimo, que pierden sus flagelos, las de la epífisis muestran como fenómeno regresivo la emigración de los blefaroplastos cerca del núcleo y su transformación en bastoncitos más ó menos largos y en granulaciones.

Nuestra creencia de que las formaciones que estudiamos derivan de los blefaroplastos de las células del epéndimo, se basa: en la observación de indudables transiciones numéricas y morfológicas entre los microsomas subciliares de las células ependimarias y los bastoncitos cortos y largos de los elementos de la epífisis y en la identidad de coloración de aquéllos y éstos, mediante una modificación del método de Achúcarro (1), especial para la demostración del centrosoma y de los corpúsculos que á él se asemejan (blefaroplastos ó corpúsculos subciliares).

Los estudios de muchos autores (Demoor, Bouin, Garnier, etc.) han demostrado la independencia de ciertas reacciones patológicas en los múltiples organitos celulares; así, pues, podemos admitir que en la pineal, como en el epéndimo, los blefaroplastos son capaces de sufrir cambios individuales con cierta independencia del conjunto celular, y de este modo alargarse unas veces y desintegrarse otras en partículas. Tal vez las granulaciones que se mezclan á los bastoncitos reconozcan este origen, ya que se observa el hecho de que á mayor número de granos corresponde menor número de bastoncitos.

La reducción del número de blefaroplastos podría explicarse por frag-

(1) 1.°, solución de tanino en caliente; 2.°, lavado en agua amoniacal; 3.°, coloración en nitrato de plata amoniacal; 4.°, lavado; 5.°, virado en oro; 6.°, lavado, y 7.°, fijación en hiposulfito de sosa al 5 por 100.

mentación y reabsorción, pero no es improbable que sea resultado de la división celular y del sucesivo reparto entre las células hijas de los microsomas de la célula madre ependimaria.

Los datos que poseemos sobre el desarrollo de la pineal autorizan nuestra creencia respecto á su naturaleza ependimaria, puesto que nos dicen que tal órgano se origina de un divertículo del epéndimo, cuya pared se ha espesado en forma de botones que permanecen huecos (como ocurre en las aves), ó se rellenan de células procedentes de la proliferación de los elementos de la pared epitelial primitiva (como acontece en los mamíferos y el hombre). Sin embargo, Dimitrowa ha descrito en la pineal del buey, ternera, carnero y perro, cavidades más ó menos amplias revestidas de epitelio cúbico ó cilíndrico, que, según la autora, son vestigios del mamelonamiento primitivo del epéndimo detenido en su desarrollo. Tal vez tengan el mismo origen los fondos de saco del epéndimo que semejan glándulas tubuliformes.

Según Prenant, es posible que ciertos elementos de la pared epitelial primitiva hayan conservado en los mamíferos caracteres epitelioides; nosotros los calificamos más bien de epiteliales, modificados hacia un tipo especial.

En resumen: para Bizzozero, Hagemann, Mihalkovics y Galeotti, la epífisis, aunque de apariencia de órgano linfoide, es, en realidad, de naturaleza epitelial; para Meynert, Luys y Darkschewitsch, es un órgano nervioso de células y fibras nerviosas; para Cionini, Edinger, Weigert, Dimitrowa, Achúcarro y Prenant, es un órgano de naturaleza neuróglica.

Nuestra opinión (que esperamos ratificar con nuevas observaciones) es que se trata de un órgano esencialmente glio-epitelial con caracteres especiales, en el que no puede señalarse límite entre lo epitelial y lo neuróglico, como lo prueban los bastoncitos intracelulares que solamente faltan en los elementos netamente fibrosos.

SESIÓN DEL 25 DE FEBRERO DE 1916

Nota preliminar al estudio sobre la morfología y significación de los *Cuerpos de Kurloff-Demel* de los mononucleares de la cavia

POR

SADI DE BUEN

Durante el curso pasado, el verano y lo que ha transcurrido de este curso hemos hecho numerosas observaciones morfológicas y experimentales encaminadas á demostrar la naturaleza de los cuerpos de Kurloff. Es esta una cuestión muy debatida, sobre la que los experimentadores han dado numerosas interpretaciones.

Tenemos registrados 58 índices leucocitarios hechos en 22 cavias normales distintos, unos de Madrid, otros de Palma de Mallorca. Entre todos ellos, sólo en seis casos dejamos de encontrar cuerpos de Kurloff; pero hay que tener en cuenta que en éstos no hicimos más que un índice leucocitario en cada uno, y en cambio en todos aquéllos en que los repetimos en días distintos los hemos encontrado. Esto nos hace creer que son comunes á todos los cavias.

Nuestra estadística da una media de 1'4 por 100 de células con estos cuerpos.

Estas células tienen un protoplasma basófilo, no muy abundante, que domina sobre todo en uno de sus polos (fig. 1); el núcleo, voluminoso, suele presentar hacia la zona, abundante en protoplasma, una escotadura no muy pronunciada. En él se presentan zonas cromáticas fuertemente coloreadas, limitadas por otras más claras y menos abundantes.

Algunas veces hemos visto formas de tránsito entre éstas, que coinciden en sus caracteres con los grandes mononucleares, y las formas de transición de la serie linfoide; por otra parte, algún cuerpo de Kurloff está incluído en células de este último grupo (como pasa con toda seguridad en la fig. 11).

Principalmente hemos hecho nuestras preparaciones con la siguiente técnica: Extensión lo más fina posible con un porta-objetos esmerilado sobre otro (como aconseja Pittaluga en la segunda edición de su Parasitología), desecación al aire, fijación con alcohol absoluto y coloración con el Giemsa y el panóptico de Pappenheim.

Del estudio cuidadoso de las preparaciones, hemos sacado la consecuencia que no es posible que los cuerpos de Kurloff sean todos exactamente de la misma naturaleza, ni que se vean términos de tránsito entre unas figuras y otras.

Unos contenidos casi siempre en vacuolas, parecen exactamente por su forma y por la coloración que toman, plaquetas fagocitadas (fig. 2).

Otros, intravacuolares todos ellos y de un color exactamente igual al nuclear, tienen bastante parecido á los copúsculos que Guarnieri demostró en la córnea de los conejos en la que previamente había inoculado virus vacinal (figs. 3 y 4).

Hasta ahora los que hemos descrito se coloreaban con los colorantes nucleares; hay un grupo bastante numeroso en que los cuerpos de que tratamos toman un tono rosado, francamente acidófilo, parecido en muchos al que toman los hematíes. Unas veces forman una masa uniforme (fig. 5) de mayor ó menor tamaño, única ó múltiple; en este caso hay varias vacuolas; otras, la vacuola continente está llena de un punteado del mismo color que las masas ya citadas (fig. 6). Creemos que en estos casos se puede tratar de hematíes fagocitados, algunos en vías de destrucción. Da mayor valor á esta idea el que hayamos conseguido producir en el torrente circulatorio formas parecidas á éstas, inoculando á cobayas hematíes de otro animal y el que hayamos sorprendido muchas veces en la zona de reacción que limita á coágulos subcutáneos grandes macrófagos, perfectamente equiparables á los mononucleares que contienen los cuerpos de Kurloff, que habían fagocitado hematíes enteros.

Hay veces que los grandes mononucleares contienen una vacuola voluminosa que ocupa casi por completo toda la célula y en cuyo interior se aprecian gran número de puntos, de bastoncitos ó de filamentos entrecruzados que toman un tono de color próximo al nuclear (figs. 7, 8 y 9); otras hay dos substancias en la vacuola, una de tono nuclear muy débil y sobre ella puntos de otra mucho más coloreada, del mismo tono (figuras 10, 11 y 12). Algunas de estas formas recuerdan á los Clamydozoos.

En vez de estas formaciones puede haber en la vacuola una masa irregular, que parece exactamente un núcleo en cariolisis por la manera de presentarse y por el color que toma (fig. 13).

Con frecuencia encontramos unos cuerpos intravacuolares sumamente refringentes, que toman el color nuclear con tanta fuerza que á veces llegan al negro; son, con toda seguridad, restos celulares, es posible derivados de la hemoglobina (figs. 14 y 15).

Hemos repetido la mayoría de los métodos de fijación y coloración empleados por los distintos autores sin conseguir con ninguno de ellos demostrar en los cuerpos de Kurloff una diferenciación en un protoplasma

y un núcleo, ni tampoco con el método del verde de metilo, pironina, que sirve perfectamente para demostrar la diferencia de basicidad nuclear y protoplásmica.

Como ya habia sido visto por todos los autores, se nota claramente un aumento de los cuerpos de Kurloff en la preñez y después de la sangría.

En lo que se refiere á sus variaciones en relación con las de los grandes mononucleares, apreciamos cierto paralelismo, sobre todo en los cobayas á que previamante habíamos colocado bajo la piel cuerpos extraños estériles.

* * *

Varias son las teorías que intentan explicar la naturaleza de los cuerpos de Kurloff.

La de Ferrato, que los identifica con los plasmosomas; nosotros no podemos seguirla, porque no vemos en nuestras preparaciones formas de tránsito entre unas y otros.

Otra, sustentada por Kurloff, Ehrlich y Ciaccio, los supone productos de secreción; seguramente no lo son; tenemos esta idea, porque sería raro que una especie de productos estuviera representada por tan distintos aspectos como los que nosotros hemos observado, ó que una clase de células verificase tan distintas secreciones.

Para Schilling, Patella, Goldhorn, Ross y otros, son parásitos. Contra esta teoría se inclinan por argumentos morfológicos Fluc y Papphenheim y, por los resultados de sus experimentos, Huffman.

Nosotros creemos que morfológicamente no pueden ser considerados como parásitos, pues, como ya hemos dicho, no se pueden distinguir en ellos ni núcleo ni protoplasma; además, es absolutamente imposible encontrar términos de transición lo suficientemente claros para relacionar unas figuras con otras.

Por otra parte, el que aumenten con la sangría, en la preñez, después de colocar bajo la piel cuerpos extraños, sus relaciones numéricas con los grandes mononucleares y el presentarse en todos los cobayas, sean de la localidad que sean, nos llevan á no considerarlos como protozoos parásitos.

Ni siquiera creemos que sean seres vivos, al contrario, como ya pensó *Cesaris-Demel*, nos parecen cuerpos incluídos de muy distinta naturaleza.

Ayudan á sustentar esta idea todos los argumentos citados al combatir la teoría parasitaria y su máximo número en el bazo (Ciaccio).

Al lector que le interese la cuestión, le trasladamos al trabajo completo leído por nosotros en esta Sociedad y que será publicado en el *Boletín del Instituto de Higiene de Alfonso XIII*, con las láminas en colores, presen-

tadas el día de su lectura, y con la cita bibliográfica y un resumen de todas las monografías que hemos podido consultar; en él encontrará repetidos los argumentos, tan rápidamente expuestos en esta nota, con mucha mayor amplitud y numerosos detalles.

(Trabajos del Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina de la Universidad Central, dirigidos por el Dr. G. Pittaluga).

Alteraciones de la neuroglia en un conejo hipertiroidizado

POR

J. D. SACRISTÁN

La posibilidad de una correlación funcional entre la neuroglia y las glándulas de secreción interna, supuesto que el tejido neuróglico represente, como pretenden varios autores, una vasta glándula intersticial del tejido nervioso, nos ha inducido á examinar la neuroglia en animales previamente tiroidizados, utilizando el nuevo proceder de Cajal del oro-sublimado.

Si las granulaciones encontradas por Nageotte y otros autores en el protoplasma neuróglico, así como por Fieandt, que les da el nombre de gliosomas y que tan claramente han sido revelados por el método de Achúcarro, representan verdaderos productos de secreción, no sería aventurado suponer, como dice Achúcarro, que la neuroglia, aparte de otras funciones, contribuyese al equilibrio hormónico general mediante una secreción interna.

En este sentido hemos emprendido, pues, nuestras investigaciones.

La tiroidización ha sido practicada por el Dr. Marañón, empleando un extracto glicerinado hecho con tiroides extirpados á enfermos afectos de bocio exoftálmico, sometiendo á los animales á inyecciones crecientes de dicho extracto. De los animales hasta ahora examinados (palomas y conejos), donde hemos advertido manifiestas alteraciones del tejido neuróglico, ha sido en un conejo, muerto á consecuencia de la tiroidización. Empleando el método áurico de Cajal, hemos observado algunas alteraciones neuróglicas interesantes.

Sabido es, como señala Cajal (1), que sólo la neuroglia de la substancia

(1) *Cajal:* Contribución al conocimiento de la neuroglia del cerebro humano. *Trab. del Lab. de Invest. biol.*, tomo XI, 1913.

blanca aparece en el conejo vigorosamente impregnada. Nótase, desde luego, que las células neuróglicas son muy numerosas y que su tamaño es mayor que el normal. Hay, pues, una verdadera hiperplasia é hipertrofia neuróglicas, semejante á la observada por Achúcarro y Gayarre (1) en la parálisis general. Las prolongaciones de las células aparecen singularmente en la substancia blanca, notablemente hipertróficas, mostrando dilataciones y varicosidades en su trayecto, y terminando en ocasiones por una dilatación ampuliforme. Parecidas alteraciones ha visto Lafora (2) en el perro senil. En cuanto al núcleo, se halla lateralizado, posición ya observada por Cajal en el conejo normal, sin que hasta el presente hayamos podido descubrir modificaciones en su estructura. En algunas ramas neuróglicas parece iniciarse un proceso de fragmentación, mediante dilataciones y adelgazamientos alternativos, que prestan á la prolongación un aspecto arrosariado, disposición vista claramente por Achúcarro y Gayarre en la parálisis general.

También hemos podido observar astrocitos gemelos, producto de recientes particiones. Otra alteración interesante se refiere á los pies ó *chupadores vasculares*. Normalmente el pie termina, según ha hecho ya notar Cajal, mediante un grupo de ramas gruesas que divergen y se dividen á menudo en dos haces de opuesta dirección. En nuestras preparaciones aparece el aparato chupador enormemente engrosado, terminándose al nivel del vaso en un espesamiento protoplásmico, y formando junto con los otros pies un verdadero forro vascular.

Como no se han hecho observaciones de la neuroglia en este sentido, hemos creído de interés consignar estas alteraciones, que de confirmarse en ulteriores investigaciones, pudieran tener una decidida importancia para la doctrina de las secreciones internas.

(1) *N. Achúcarro* y *M. Gayarre:* La corteza cerebral en la demencia paralítica con el nuevo método del oro y sublimado de Cajal. *Trab. del Lab. de Invest. biol.*, tomo XII, 1914.

(2) *G. R. Lafora:* Neoformaciones dendríticas en las neuronas y alteraciones de la neuroglia en el perro senil. *Trab. del Lab. de Invest. biol.*, tomo XII, 1914.

Nota acerca del aparato de Golgi en los órganos gustativos

POR

FERNANDO DE CASTRO

Para el estudio de este aparato nos hemos valido del conejo, perro, cobaya adultos y de pocos días, y del hombre adulto autopsiado dos horas después de la muerte. El proceder seguido por nosotros fué el recomendado por Cajal: impregnación argéntica previa fijación formol-uránica (1); con este método hemos obtenido excelentes preparaciones. Para diferenciar bien los núcleos de las dos clases de elementos existentes en estos órganos del gusto, hemos usado la safranina, tionina, hematoxilina, etc.

En cuanto á la manera de estar dispuestos los bulbos del gusto es distinta según el animal que observemos: en el hombre se encuentran en las papilas fungiformes y caliciformes; en éstas se colocan formando en rededor de la papila una faja ó cinturón, de modo que todos los poros gustativos están mirando al surco circular ó fosa de la papila, y en las fungiformes en el extremo libre de la misma; si es en el perro, no solamente ocupan en las papilas caliciformes las partes laterales ó mirando al cáliz, sino que también en la parte superior ó libre, donde más abundan; en el conejo se disponen en el famoso órgano foliado, situado en las partes laterales de la lengua y en la unión del tercio posterior con los dos tercios anteriores y, para dar fin á esta parte, diremos que, en el cobaya se encuentran en una especie de órgano foliado, situado en el tercio posterior de la lengua á cada lado de la línea media y un poco por fuera de ella. Este órgano lo componen tres ó cuatro surcos, más ó menos paralelos entre sí y con una ligera dirección de dentro afuera y de atrás adelante. Si damos un corte fino vertical á estos surcos, lo teñimos y examinamos al microscopio, vemos que la manera de disposición de estos bulbos gustativos es muy parecida á como la que se encuentra en el conejo, es decir, se disponen en las partes laterales del surco, pero más bien desde la mitad de su altura hacia abajo, hasta cerca del fondo del surco, dando por resultado en la parte inferior una forma semicircular.

Los bulbos del gusto se componen de dos suertes de células: las llamadas *gustativas* ó bipolares y las células de sostén ó de apoyo; las células gustativas son alargadas, en forma de huso, ocupan la parte central y po-

(1) *Cajal:* Fórmula de fijación para la demostración fácil del aparato reticular de Golgi. *Trab. del Lab. de Invest. biol.*, tomo X, 1912.

seen un núcleo de forma oval; las células de sostenimiento están situadas en la periferia, según Retzius y Lenhosék, si bien, como hacen notar Merkel y Ranvier y, como nosotros hemos observado, se encuentran algunas de las veces un cierto número de ellas mezcladas con las células bipolares; el núcleo de éstas es circular y algo mayor que el de las gustativas.

Células bipolares. — El cuerpo celular de estos elementos es poco impregnable por la fórmula uránica, distinguiéndoselas por la forma de su núcleo, en su polo externo y hacia la parte del poro gustativo es la única región de la célula bien impregnable.

El aparato de Golgi es parecido en algunas formas al encontrado por Fañanás (1) en los granos profundos y células empenachadas externas del bulbo olfativo. La forma dominante del aparato reticular en esta clase de corpúsculos es la de un cordón largo, *cordón polar*, ocupando la parte externa de la célula, comenzando bastante cerca del extremo celular periférico y terminando cerca del núcleo por una, dos, tres ramas pocas veces, y muy raramente cuatro pies, adoptando forma de horquilla, trípode ó un sistema de patillas.

Estos pies ó ramas pueden ser alargados y reducidos ó cortos.

Cuando son alargados y es una sola la rama ó pie, trepa en rededor del núcleo como tendiendo á abrazarlo, el trayecto suele ser sinuoso y la forma de terminación de punta fina ó muñoncito; si son dos los pies alargados, se elevan de una manera perezosa, afectan alguna que otra lobulación, estas ramas pueden alguna vez bifurcarse á distintas distancias de su trayecto, siguiendo las dos ramas hijas resultantes su elevación á la par, su terminación es la ya indicada; cuando estos pies son tres ó más, se levantan por las partes laterales del núcleo y por la central, en éstas la terminación es idéntica. Si los pies son cortos, aparecen en forma de muñones gruesos unidos al cordón polar, el cual suele presentar en la parte en donde se unen los pies, un ensanchamiento triangular. (Véanse figuras 1 y 2).

Quédanos que decir dos palabras de las formas que pudiéramos llamar *ápodas*, *reticuladas propiamente dichas*, *fragmentadas* y *granulosas*; las reticuladas propiamente dichas son las formas más complicadas del aparato de Golgi en estos elementos; se componen á más del cordón polar de tres ó más ramas principales y otras finas ó trabéculos, los cuales saltan de una rama principal á otra, ó de las finas entre sí, dando por resultado un retículo sencillo; las formas llamadas ápodas ó sin pies adoptan la manera de un fuerte grumo triangular, formando un casquete ó caperu-

(1) *Fañanás:* El aparato endocelular de Golgi de la mucosa y bulbo olfatorios. *Trab. del Lab. de Invest. biol*, tomo X, fascículo 4, 1912.

za nuclear; su cordón polar suele ser reducido; las denominadas fragmentadas ó en grumos sueltos, aparece el cordón polar tronchado en fragmentos de distintas longitudes; y por último, las formas granulosas en que nos aparece un grado más en la fragmentación del retículo, parece como si la materia argentófila se hubiese consumido más. Casi con los datos aportados podríamos señalar una serie de cambios en las formas del aparato de Golgi que militaran en pro de la idea emitida por distintos autores, de que el aparato de Golgi no es un órgano estático sin variación de ninguna clase, sino que está sometido á cambios de aumento y disminución en paralelismo con la actividad celular.

Células de sostenimiento. — Estas células, al contrario que las bipolares, se impregna su cuerpo por el método del formol-urano de un color pardo claro, y exhiben un núcleo redondeado y grande que las hace distinguir fácilmente.

El aparato de Golgi de esta cláse de elementos reside en torno del núcleo, y en las formas jóvenes, como el conejo de pocos días, aparece una manifestación á la localización en la parte externa. La forma que adoptan es la de grumos, anillos, intestinos con lubosidades, etc. En el conejo suelen aparecer estos intestinos y anillos formando unas coronas exuberantes; en el hombre, por lo menos en lo que se refiere á la edad adulta, es muy pobre en anillos é intestinos, presentando en mayor cantidad grumos finos.

Conclusión. — Existe el aparato reticular de Golgi en las células bipolares y de sostén, como ya era de presumir. La situación del aparato reticular interno de las células bipolares es, en la región externa del corpúsculo ó mirando al *polo mundial* de Cajal, en forma de largo cordón (*cordón polar*), recordando algunas formas las que presentan las células empenachadas externas y granos profundos del bulbo olfatorio descritas por Fañanás, y á las pequeñas y medianas pirámides de los animales jóvenes; mientras que los cospúsculos de sostén lo presentan en torno del núcleo con alguna tendencia á la parte externa, sobre todo en los animales jóvenes, y en forma de anillos, intestinos, grumos, etc.

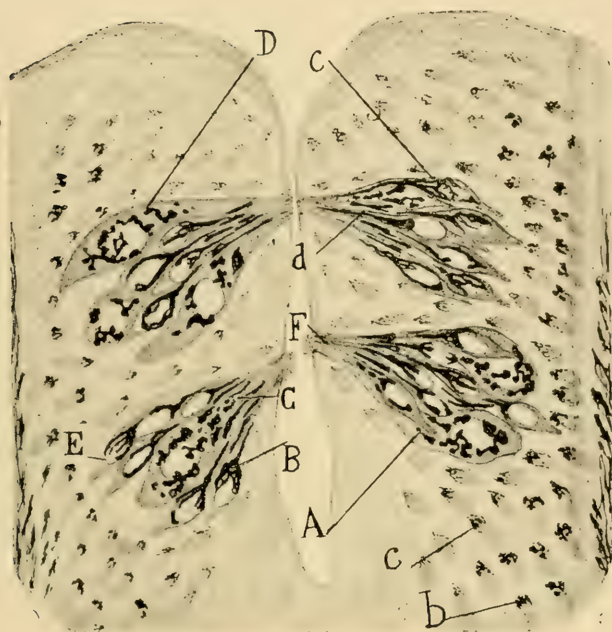


Fig. 1.—Corte del órgano foliado del conejo de dieciocho días. Impregnación argéntica, con previa fijación formol-uránica.—A y D, células de sostén ó de apoyo, en cuyo interior se ve el aparato de Golgi formando intestinos; B y C, células gustativas ó sensoriales, con aparato endocelular complicado formando fino retículo; E y F, polo central y periférico de dos células bipolares; *a*, surco interpapilar, donde se ven desembocar los poros gustativos; *c*, *b*, retículo de Golgi de las células epiteliales. ***d***, cordón polar de una célula bipolar.

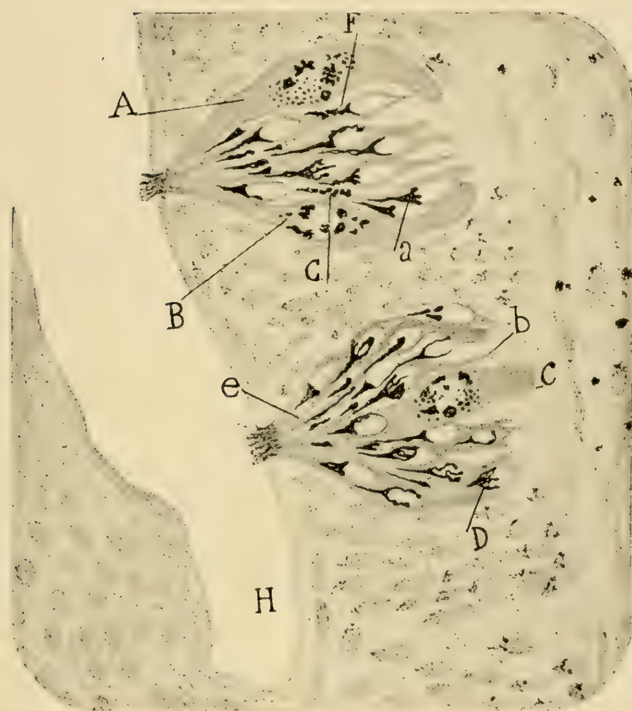


Fig. 2.—Trozo de un corte vertical de una papila caliciforme del hombre adulto, autopsiado á las dos horas de la muerte. Proceder mezcla formol-urano.—A, B, C, células de sostenimiento con su correspondiente aparato reticular; D, F, G, células bipolares donde aparece el aparato de Golgi en D, *reticulado propiamente dicho*, y en F y G, trunchado; H, surco circular ó fosa de la papila; *b*, *c*, polos central y periférico de las células gustativas; *a*, aparato reticular con pies cortos.

Cultivo de células en saco de colodión en la cavidad peritoneal del conejo

POR

F. COCA

La experiencia objeto de nuestra comunicación fué realizada del modo siguiente: trocitos de cáncer de ratón fueron puestos en cultivo *in vitro* en plasma de conejo; cada veinticuatro horas uno de estos trozos fué separado del cultivo y puesto en el líquido fijador para estudiar las modificaciones de sus células, hasta el quinto día. En el quinto día, todos los trozos restantes fueron puestos en saco de colodión con adición de nuevo plasma de conejo, y así encerrado en la cavidad peritoneal de otro conejo, permaneciendo allí durante ocho días.

Pasado este tiempo sacamos el saco de colodión, que aparecía envuelto en un saco de tejido de nueva formación, y los pedacitos de cáncer, que en él estaban encerrados y formaban con el plasma un solo cuerpo, fueron en una parte inoculados, en el tejido celular subcutáneo del abdomen de otro conejo, y el resto fijado para su estudio histológico.

En los preparados de las piezas del primero al quinto día se ve, que las células del cáncer de ratón viven en el plasma de conejo, sin modificar su estructura y morfología, reproduciéndose activamente, sin que haya diferencia entre las células hijas y aquellas de las que proceden. En una palabra, la célula cancerosa cultivada no se *desdiferencia*, según la descripción que de este fenómeno ha hecho el Dr. Champy.

En los cortes de las piezas retiradas del saco de colodión, los fenómenos ocurridos son más interesantes. Hemos de estudiar aquí tres tipos de células: los leucocitos, procedentes de los que infiltran, y en ciertos puntos forman focos de necrosis, el cáncer de ratón, las células neoplásicas y las del estroma conjuntivo.

En la mayor parte de los leucocitos no se advierte modificación de estructura; algunos muestran el núcleo en picnosis, y en otros parece advertirse fases de mitosis, pero no es esto evidente.

De las células neoplásicas son pocas las que subsisten con vida en este tiempo; pero las que existen no se han modificado.

Las células conjuntivas están de tal modo modificadas, que en nada recuerdan las del estroma conjuntivo del cáncer; se han convertido en células gigantes embrionarias, fusiformes, ovoideas ó esféricas, de núcleo voluminoso ovoideo ó esférico y rico en cromatina, que frecuente-

mente se encuentra en fase de división mitósica evidente; células que tienen gran parecido con las de un sarcoma fuso-celular á grandes células.

Estas células conjuntivas tienen tendencia á recubrir totalmente la superficie del plasma, y así se ven grandes espacios de la superficie en el corte, recubiertos por una hilera de células alargadas, unidas unas á otras por sus extremos; en las anfractuosidades se reunen dos, tres ó más células, y entonces toman el tipo anteriormente descrito; algunas células, están enclavadas en parte en el plasma.

Estas células son las células conjuntivas del estroma del cáncer, *desdiferenciadas.*

El objeto que nos proponíamos con esta experiencia era ver si, después de habituadas las células del cáncer de ratón á nutrirse de las substancias del plasma del conejo, y aun á vivir en este organismo, conseguíamos reproducir en él el cáncer; en este sentido, nuestra experiencia no dió el resultado deseado, pues las células inoculadas subcutáneamente en el conejo no reprodujeron la neoplasia.

Pero, en cambio, es de excepcional importancia biológica el hecho observado de que las células fisiológicas se *desdiferencian* y convierten en células embrionarias indiferentes y que no se *desdiferencian* las células neoplásicas porque son células ya *desdiferenciadas* en el organismo.

(Trabajo realizado con el Dr. Chr. Champy en el Laboratorio de la Clínica ginecológica de la Facultad de París).



SESIÓN DEL 24 DE MARZO DE 1916

Algunos ensayos sobre precipitinas, desviación del complemento y anafilaxia

POR

T. CAMPUZANO

Estos ensayos están hechos con albúminas, y el fin que nos propusimos fué el de llevar á cabo un estudio de los diferentes métodos biológicos de diferenciación de albúminas.

Reacción precipitante. — Al preparar los primeros sueros precipitantes, quisimos averiguar la ventaja que tiene el empleo del extracto muscular

de un animal sobre el suero sanguíneo del mismo como antígeno, para lo cual, inyectamos á dos conejos con un intervalo de cinco días, endovenosamente, uno con suero sanguíneo y el otro con un extracto muscular; el primero murió de anafilaxia á la segunda inyección, y el segundo murió de lo mismo á la tercera inyección.

En vista de tan funestos resultados, ensayamos en otros conejos diferentes maneras de evitar la anafilaxia; no empleamos la eterización, por haber visto hace años los medianos resultados obtenidos por el Dr. Gallardo en la obtención de amboceptores hemolíticos, empleando en cambio, la inactivación del antígeno y la inyección alterna; hemos obtenido bastantes buenos sueros precipitantes.

El obtenido con extracto, como antígeno, nos dió un título igual al 1 por 3.000 de Uhlenhuth.

El obtenido con suero empleado como antígeno, llegó su título al 1 por 6.000, lo cual consideramos suficiente para los estudios que íbamos á hacer.

Estudiando estos anticuerpos, pensamos en obtener un suero precipitante que, empleando en la reacción el antígeno poco diluído, fuera sumamente específico, habiéndole encontrrdo, á nuestro parecer, del modo siguiente:

«Cuando se prepara un animal para obtener esta clase de anticuerpos, téngase cuidado en emplear siempre como antígeno las albúminas del mismo individuo, pues de este modo hemos podido obtener algún suero, específico en alto grado».

Como nota técnica diré, que al sangrar los conejos para obtener su sangre y más tarde de ésta su suero, en vez de hacerlo por sección de las carótidas lo hacemos por punción del corazón, del mismo modo que el que empleamos en la sección del Dr. Pittaluga del Instituto de Alfonso XIII (donde gracias á su amabilidad he podido hacer estos estudios), para preparar agar-sangre como medio de cultivo para las leishmanias, y de este modo evitamos la muerte del animal, pudiéndole emplear más tarde para otros ensayos, siendo al mismo tiempo más difícil la contaminación del suero.

Una vez en posesión de los mencionados sueros, ensayamos diferentes maneras de conservarlos; con el ácido fénico, aun en pequeñas cantidades, nos ha dado siempre al suero una opacidad incompatible con su empleo en esta reacción.

Con el cloroformo, á los tres ó cuatro días nos ha dado coagulaciones parciales en forma de pequeñas nubes, siéndonos imposible separarlas del suero transparente para emplearle lo mismo que la adición de otras substancias conservadoras.

Es posible que esto sea debido á un sistema coloide de micelas en equilibrio inestable, distinto quizás por sus caracteres físico-químicos del que es propio de los sueros inmunes citolíticos, como los amboceptores hemolíticos, etc.

La inestabilidad del sistema micelar se revelaría en tales casos por la facilidad con que se produce el enturbiamiento en presencia de cantidades infinitesimales de una substancia química (como el ácido fénico) que, en cambio, en el caso de los amboceptores citolíticos, no lo produce.

De la manera que nos ha dado mejores resultados ha sido el envase aséptico en ampollas de cristal color caramelo, puestas para su almacenamiento en un sitio fresco.

Teniendo bien titulados los sueros, intentamos á modo de ensayo, aunque en corto número de veces, averiguar si un suero precipitante para la albúmina de un individuo precipitaba al líquido hidatídico contenido en los quistes que él pudiera tener; una vez hechas las reacciones necesarias, no apreciamos ninguna precipitación ni aun empleando líquido hidatídico puro; probamos si el líquido hidatídico contenía la suficiente cantidad de albúmina aprovechable para esta reacción, según recomienda *Uhlenhuth*, y la carencia de ésta en cantidad suficiente nos explicó los resultados de la reacción; en cambio, empleando un extracto acuoso de la membrana prolífera de los quistes, dió una fuerte reacción zonal.

Reacción Neisser y Sachs. — Como sistema hemolítico hemos empleado hematíes de carnero á la dosis fija de cinco centésimas, el amboceptor hemolítico anticarnero á la dosis de una décima de centímetro cúbico y el complemento bajo dos formas, *líquido*, tal como lo contiene el suero fresco de cobaya, y el desecado en papeles chupón.

La dosis del complemento líquido osciló de una décima á veinticinco milésimas de centímetro cúbico; el desecado en papeles lo hemos desechado, no por su inactividad, sino por su inconstante y poco segura dosificación.

Debo hacer notar que para la obtención del complemento no sangramos al cobaya de las carótidas, sino que, seccionando una yugular del animal, obtenemos de él gran cantidad de complemento, evitando así la pérdida del cobaya.

Como sistema de reacción, hemos empleado antígenos acuosos y otros sustitutivos alcohólicos, dándonos mejores resultados estos últimos; como anticuerpo específico el suero precipitante á dosis variables.

Antes de realizar estos ensayos, investigamos la presencia de hemolisinas naturales espontáneas, señaladas por algunos autores en el suero de la cabra frente á los glóbulos rojos de carnero, no encontrando estos anticuerpos más que en un suero de tres que examinamos, á la dosis mí-

nima de 15 centésimas después de permanecer los tubos dos horas en la estufa á 37°.

En los ensayos que hemos hecho de la reacción de fijación del complemento, teniendo como fin el diagnosticar una albúmina, empleándola como antígeno, hemos visto que la adición de substancias químicas, ácidas ó básicas, dan reacciones de difícil interpretación; que el complemento debe estar muy bien titulado por lo sensible de esta reacción; que la investigación de la albúmina de cabra no requiere un sistema hemolítico especial, y, por último, que la presencia de albúmina de parásitos en pequeñas dosis no impide se verifique la reacción.

Anafilaxia. — Como animales reactivos hemos empledo al conejo y al cobaya, inyectándolos, respectivamente, por las venas auriculares y por el corazón ó las yugulares; unas veces hemos sensibilizado al animal con albúmina problema, y otras le teníamos previamente sensibilizado con albúmina conocida y dosificada, deduciendo de nuestros resultados que el conejo inyectado con albúmina conocida responde bastante bien á su empleo como cuerpo de reacción, necesitando para sensibilizarle dosis muchos mayores que al cobaya; y aunque no sea muy segura su respuesta, lo hace de una manera fácil de interpretar cuando está bien sensibilizado.

El cobaya, aunque más sensible, nos ha dado algunas veces resultados difíciles de interpretar en el animal entero, pero de fácil resolución al autopsiarle; me explicaré: Algunos de los cobayas sensibilizados, al ponerle la segunda inyección, murieron en medio de fuertes convulsiones, pareciendo los síntomas del schok anafiláctico, aunque su agonía no fuera tan rápida como es frecuente en estos casos y se notara fácilmente síntomas de asfixia.

Hecha la autopsia de estos animales, encontramos la cavidad torácica rellena de un coágulo sanguíneo, que comprimía los pulmones, por lo cual nos convencimos de que habían muerto, no de anafilaxia, sino de asfixia ocasionada por rotura del corazón, debida á los movimientos incoordinados de defensa, tan frecuentes en estos animales, estando la aguja introducida en el mismo.

Reacción meiostágmica.— Gracias á la amabilidad de los Dres. Marañón y Sacristán, que me proporcionaron trabajos suyos sobre este particular, y á la del Dr. Pittaluga, que me prestó el estalagmómetro de *Traube*, pudimos obtener estos resultados, que no tienen ningún valor puesto que dependen exclusivamente de la habilidad del operador, de la cual, desgraciadamente, no podemos presumir.

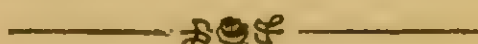
Hemos probado esta reacción, sustituyendo, como es natural, el suero del enfermo-problema por un suero inmune conocido y al antígeno por

substancias albuminoideas de origen animal, probando primero si la mezcla de dos albúminas heterólogas daban reacción, lo cual no sucedió; comparándolas con otras soluciones hechas á bases de cada una, también probamos si la unión de una albúmina con suero inmune heterólogo lo aumentaban el número de gotas, lo que tampoco apreciamos y, por último, si el suero precipitante, añadido solamente al suero fisiológico, aumentaba ó disminuía la tensión superficial; esto fué muy inconstante en varias pruebas que hicimos.

Los antígenos que hemos empleado han sido de dos clases: unos frescos (puesto que queríamos averiguar de qué especie animal procedía un suero), y otros metil-alcohólicos, hechos con trozos musculares, preparados según técnica recomendada por Ascoli é Izar, para la preparación del antígeno tumoral.

Como anticuerpos hemos empleado los contenidos en sueros precipitantes, tanto frescos como conservados con ácido fénico, no encontrando por este procedimiento de diagnóstico la presencia de substancias difusibles entre una albúmina y su anticuerpo, comprobando, en lo que cabe, algo de lo dicho por *Fukuhara*.

No hemos aplicado á la diferenciación de albúminas las peptonas dializadas de *Abderhalden*, por no encontrarse en el comercio los elementos indispensables para hacer esta reacción, pero creemos que será una de las más seguras, encaminadas á la resolución de este problema.



Sobre ciertas células del apéndice vermiforme aún no descriptas

POR

P. DEL RIO HORTEGA



El importante problema de la fisiología del apéndice vermicular continúa sin resolver á la hora presente y nada nos indica la proximidad de su resolución.

Los investigadores, acaso obsesionados por la idea de la aparente inutilidad de este órgano, ó no multiplicaron sus pesquisas ó se dieron por vencidos en la empresa.

En el terreno histológico del mismo modo, recogido cuanto los métodos corrientes de investigación poco minuciosa podían revelar, consideróse agotado el tema y casi definitivamente resuelto. Y si en el llano terreno

de la histología aconteció lo señalado, en el más complejo de la función del órgano apendicular apenas se dió un paso, en parte tal vez, á causa del imperfecto conocimiento que tenemos de su textura.

Por ésto juzgamos de algún interés histo-fisiológico dar cuenta de un pequeño hallazgo nuestro, guiados por la única mira de llamar la atención sobre lo mucho (acaso lo más importante) que falta todavía por estudiar en el apéndice y que verosímilmente encierra la clave del misterioso fisiologismo de este órgano, cuya patología, perfectamente definida, perfectamente individual y propia, ofrece el más grande interés.

Histológicamente se ha creído ver en el apéndice un órgano, no sólo atrófico sino también degenerado, y, desde otros puntos de vista, se le ha supuesto «inútil» y «peligroso». Habíase estudiado el epitelio de su mucosa y creídole en degeneración; habíase presenciado el derrumbamiento de las criptas glanduliformes y la dispersión y desagregación de sus elementos..... Y, sin embargo, nada de esto es cierto; lo es, sin duda, que en apéndices en estado patológico ó recogidos muchas horas después de la muerte y mal fijados, los elementos epiteliales presentan caracteres muy distantes de los del epitelio sano. Pero basta observar un apéndice normal, recogido poco después de la muerte del individuo y fijado convenientemente (condiciones indispensables para el estudio del vermium), para convencerse de que su epitelio se halla íntegro y de que en el fondo de sus repliegues existen cariokinesis abundantes que atestiguan la activa renovación celular; de que las criptas glanduliformes son verdaderas glándulas de Lieberkühn, en cuyo fondo se descubren células de Paneth en plena actividad secretoria, y finalmente, de que en los centros germinativos del folículo cerrado que envuelve á la mucosa, existe gran copia de células en división.

Con semejantes signos de vitalidad, podría considerarse al apéndice vermiforme como un órgano en estado atrófico, pero de ningún modo en estado de regresión celular; podría creérsele dotado de función limitada y de valor restringido, pero jamás exento de función.

En una comunicación anterior (1), dimos noticia de la existencia de células de Paneth en las criptas glanduliformes apendiculares, demostrando que son verdaderas glándulas de Lieberkühn, idénticas á las del intestino delgado. Hoy vamos á señalar la presencia en el vermium de ciertas células especiales formadoras de granos, las cuales no han sido mencionadas aún por los autores. Por sus caracteres morfológicos, pueden estimarse al igual que las de Paneth como células secretoras, aunque la naturaleza de unas y otras sea totalmente distinta.

(1) Sobre la existencia de células de Paneth en el apéndice vermiforme. Boletín de la Sociedad Española de Biología. Enero, 1915.

No está en nuestro ánimo dar de tales células una descripción completa, por ser empresa que requiere más copiosas observaciones, sino simplemente, hacer un esbozo de sus rasgos más característicos y principales.

Nuestras observaciones (efectuadas al lado del profesor Prenant, de París) han recaído sobre tres apéndices de individuos guillotinados, dos de niño y varios de adulto, muertos por causas diversas.

Las piezas fueron fijadas en los líquidos de Flemming y de Bouin ó en formol al 10 por 100, é incluídas en parafina ó cortadas por congelación. En la coloración de los cortes hemos seguido los métodos de Heidenhain (con algunas variantes), tricrómicos de Cajal, Prenant y Van Giesson, el tano-argéntico de Achúcarro y el de Gram para la bacteriología.

Cualquiera de estos métodos es bueno para estudiar en su conjunto la constitución histológica de los folículos cerrados del apéndice. Igualmente que los del intestino, hállanse formados de una parte periférica densa y obscura muy rica en células embrionarias y de una parte central denominada «centro germinativo», la cual se reconoce por su especial transparencia y por los elementos epitelioides que la constituyen (fig. 1).

Desde que Flemming y sus discípulos Schedel y Möbius estudiaron esta parte central de los folículos solitarios, se la considera formada por un tipo de células cuyo protoplasma, á veces mal limitado, parece fundirse en una masa sincitial, y cuyos núcleos, de aspecto epitelioide, poseen un retículo laxo, poco teñido y algunas granulaciones ó bloques de cromatina, yacentes en el carioplasma.

Estas células germinativas ó linfógenas, entre las cuales se reconocen abundantes figuras mitósicas, son los únicos elementos que han sido señalados por los autores.

Mas si se observa cuidadosamente el centro germinativo, no tarda en percibirse que, entre los núcleos de las células mencionadas, que poseen abundantes granos de cromatina irregularmente repartidos, existen otros núcleos más voluminosos y mucho menos abundantes, caracterizados por poseer un grueso nucleolo único y por hallarse aparentemente desprovistos de cromatina (fig. 1).

Estas células de núcleo grande, dotado de gran transparencia, poseen un protoplasma refractario á casi todas las coloraciones, en el que se distinguen algunos gruesos granos teñidos con avidez. Cuando logra teñirse este protoplasma, sea con el método de Achúcarro, sea con el de Heidenhain con fondo de fuchina, de eosina ó de picro-índigo, ostenta muy variados aspectos que suponen otras tantas fases de un mismo proceso funcional, consistente en la formación de granos proteicos y en su disolución en el seno de la célula.

Así, pues, unas veces aparece finamente granuloso, otras veces exhibe granulaciones de tamaño considerable, y otras, en fin, muéstrase vacuolizado y como en degeneración.

En relación con las dimensiones del núcleo germinativo, pueden contarse en él hasta 10, 20 ó más células especiales, que se reparten sin orden alguno, por más de que á veces parecen preferir las partes periféricas, vecinas á los elementos linfoides del folículo, y, sobre todo, la parte más externa, en contacto con los haces conectivos subyacentes.

La forma de las células especiales generadoras de granos, es ora redondeada, ora angulosa ó ya francamente estrellada, emitiendo prolongaciones muy tenues que se insinúan entre las células germinativas del folículo.

Una coloración con hematoxilina férrica, seguida de otra con fuchina básica y fondo de picro índigo-carmín, permite discernir en el protoplasma hasta tres tipos de granulaciones: las más diminutas, teñidas en rojo; las medianas, en verde, y las mayores, en negro. El método de Achúcarro muestra también, con diferentes tonalidades de color, los granos pequeños y los grandes, pero ordinariamente (como todos los otros métodos) no deja ver sino debilísimamente teñida la parte amorfa del protoplasma. Para lograr una coloración más completa de ella, se precisa recurrir á la aplicación del alumbre de hierro al 3 por 100, bañando en él un instante (1) los cortes previamente coloreados por el tanino y la plata. El protoplasma impregnado con vestigios de tanino, adquiere un tono gris-azulado mediante el baño férrico. Las granulaciones conservan el matiz pardo-amarillento de la plata reducida.

Si se siguen las distintas fases por que atraviesan las células que nos ocupan (figs. 1 y 2), distínguense:

A) Células de protoplasma obscuro, finamente granuloso, cuyas granulaciones no retienen la hematoxilina de Heidenhain, y se tiñen por la fuchina básica y el método de Gram (fig. 1, B, C, D).

B) Células con granulaciones mayores (mezcladas á otras más diminutas), que se colorean débilmente por la hematoxilina de Heidenhain y con más intensidad por los métodos de Achúcarro y de Gram (fig. 1, E, F, G, H).

C) Células, en las cuales á los dos tipos precedentes de granulaciones se suma otro de granos voluminosos (seis ó más micras), los cuales se tiñen en negro por la hematoxilina férrica é intensamente por las anilinas básicas (fig. 1, H, I, J, K, L).

D) Células cuyas granulaciones están contenidas dentro de vacuolas,

(1) Conviene recordar las propiedades decolorantes del alumbre de hierro para los objetos teñidos por la plata, á poco que su acción se prolongue.

y comienzan á disolverse formando cuerpos semilunares (fig. 1, I, J, K, L, M, N).

E) Células cuyos granos están ya disueltos y aparecen vacuoladas y vacías (fig. 1, O, P, Q).

F) Células con vacuolas menos abundantes y protoplasma más condensado y visible (fig. 1, R).

G) Células más pequeñas, redondeadas, de protoplasma finamente granugiento, las cuales parecen hallarse en reposo. Las granulaciones fuchinófilas primarias reaparecen, por regla general, en estos elementos, pero á veces se las encuentra ya en fases anteriores (células vacuoladas) (figura 1, A).

En todas estas células en constante mutación, lo único que no cambia de aspecto es el núcleo. Su grueso nucleolo y su pobreza en cromatina, contrastando con los núcleos de las células germinativas, permiten siempre reconocer y distinguir ambos tipos celulares.

Incluso en ciertos elementos obscuros, retraídos y angulosos que parecen en regeneración (como las células estrechas ú obscuras de la mucosa intestinal: células mucinógenas en reposo), el núcleo, aunque arrugado y picnótico, conserva su grueso nucleolo sin alteración.

Como se ve por lo que antecede, estas células presentan todos los caracteres que les son propios á los elementos glandulares, desde que comienza su actividad secretora hasta que expulsan el producto segregado y quedan en reposo, ó sea desde que se inicia la formación de granulaciones primarias, hasta que se disuelven los granos de secreción.

Pero ¿estas células son secretoras? Este es el problema por resolver. Por nuestra parte no creemos se trate de células análogas á las que existen en los ganglios linfáticos, y que los autores consideran como macrófagos sedentarios, destinados á fagocitar hematíes normales ó degenerados, leucocitos polinucleares y los restos de núcleos leucocitarios que constituyen lo que Flemming denomina *tingible Körper*, puesto que los caracteres de las células estudiadas no concuerdan con los que ostentan tales macrófagos fijos. En éstos, los hematíes se transforman en pigmento, ó bien son digeridos dentro de una vacuola protoplásmica ú originan las voluminosas bolas hemoglóbicas que han sido estudiadas por Schumacher. Mas en ningún caso llegan á formar los hematíes granulaciones no pigmentarias de tamaño decreciente, que podrían confundirse con los granos de volumen cada vez mayor que se encuentran en las células granulógenas del apéndice.

Confesemos, sin embargo, que cuando dichos granos alcanzan el máximum de tamaño y comienzan á disolverse por un lado y forman cuerpos semilunares (Halbmondkörperchen), el parecido que ofrecen con los

hematíes, no sólo desde el punto de vista morfológico, sino también en sentido reaccional, podría inducir á error si no se vieran las indudables y suaves transiciones que existen entre las granos más voluminosos y los que por su pequeñez llegan al límite de la visibilidad. Y si á pesar de todo esto hubiera dudas, el método de Heidenhain y el de Gram serían suficientes para alejarlas. Basta, en efecto, prolongar un poco la decoloración de los cortes en ambos métodos para que los hematíes pierdan toda traza de color, en tanto que los granos que á ellos se asemejan le conservan sin merma de su intensidad.

Por otra parte, como sostiene Delamare, no está perfectamente demostrado, no obstante las afirmaciones de Gabbi, Masslow, Schumacher y otros, que la hematolisis se verifique en condiciones normales en los ganglios linfáticos, y mucho menos en los órganos linfoides.

Las bolas hemoglóbicas de Schumacher no se encuentran en los folículos cerrados del apéndice; pero lejos de ellos, en la submucosa y entre los planos musculares, se ven con alguna frecuencia formaciones hialinas que recuerdan á las estudiadas por Schumacher y que en ningún caso se relacionan con las células granulógenas (1).

Es lo más verosímil para nosotros, que estas células tengan algo que ver con la presunta función del órgano apendicular, en el cual podría admitirse la existencia de una glándula intersticial análoga á la del testículo y el ovario.

Dicha glándula intersticial podría segregar una substancia semejante á la que se supone segregada por los demás órganos linfoides, v. gr., la *amilasa*, estudiada por Rossbach en la amígdala; la *trombasa*, que Foa y Pellangani encuentran en los ganglios linfáticos; la *lipasa*, admitida por Poulain en las placas de Peyero, y la *enteroquinasa*, hallada por Delezenne en los ganglios mesentéricos. El apéndice íleo-cecal puede muy bien agruparse con los órganos mencionados, por la riqueza en folículos que posee, en la que Gerard basa la denominación de «amígdala del ciego» que da al apéndice.

No es, pues, un absurdo suponer á este órgano dotado de las propie-

(1) En el apéndice existen en efecto ciertas bolas que los autores no han mencionado todavía y cuyos caracteres son los que siguen: *Situación* en planos diferentes de la submucosa y entre los haces conectivos perilinfoides; nunca en el folículo cerrado. *Morfología* perfectamente definida y fija; bolas de tamaño diverso, siempre superior al de un hematíe y hasta cuatro ó seis veces mayor; aisladas si son voluminosas y en agrupaciones morulares si son más pequeñas; nunca en relación de continuidad con ninguna clase de células. *Reacciones* colorantes comunes con las células de Paneth y algo diferentes de las granulógenas foliculares, de cuyas bolas se diferencian esencialmente por la transparencia ó hialinidad que aquéllas poseen.

dades secretoras y de la capacidad de producir un fermento especial, supuestas en los mencionados órganos linfoides.

Se ha creído que el origen de dichos fermentos estaría en las células de los órganos respectivos, las cuales degeneran en gran número y, por consiguiente, que el ganglio linfático y los órganos linfoides en general, serían una especie de glándulas holocrinas, autolíticas, cuyo producto de secreción lo sería más bien de desintegración total ó parcial de sus elementos.

No creemos, sin embargo, que de existir en el apéndice una función glandular, reconozca semejante origen; puesto que en las células que hemos descrito, presuntas células secretoras, se observan fases de regeneración después de haber sido disuelto y eliminado su producto, lo que prueba que éste no es un resultado de lisis celular, sino una substancia especial formada en el seno de la célula, gracias á una particular actividad secretora de ella.

Las experiencias de Robinson en 1907, las de Savini en 1910 y las de Marañón en 1914, hablan en favor de la función endocrina del apéndice, y constituyen elementos de juicio de gran valor.

Robinson demostró que el apéndice es un órgano dotado de cierto poder digestivo para las substancias albuminoideas é hidrocarbonadas; pero mucho más interesante por la acción especial del líquido ácido que segrega, que ejerce el importante papel de un hormón estimulante del ciego y provocador de sus contracciones.

Mediante la ingestión de pequeñas dosis (un cuarto de gramo) de polvo de apéndice desecado, logró Savini provocar el peristaltismo intestinal de una manera constante, y apoyándose en sus resultados, propone la organoterapia apendicular, basada en la acción excito-motriz casi específica que ejerce sobre los movimientos peristálticos del intestino grueso.

Marañón, en sus experiencias, logró demostrar que los extractos en suero isotónico de apéndice sano de individuos jóvenes, ejercen una acción estimulante de las contracciones intestinales.

No parece dudoso, según esto, el papel excito-motor del hormón del apéndice sobre la fibra muscular lisa del intestino. Falta ahora por determinar la relación que existe entre esta función y las células granulógenas que hemos estudiado, y si semejante hormón es segregado por ellas.

Por nuestra parte, creemos que, de engendrarse en el apéndice un fermento especial, tal función incumbe á las células granulógenas.

Para terminar estas notas, señalaremos el hecho de que las células granulógenas no existen ni en los ganglios linfáticos, ni en los folículos

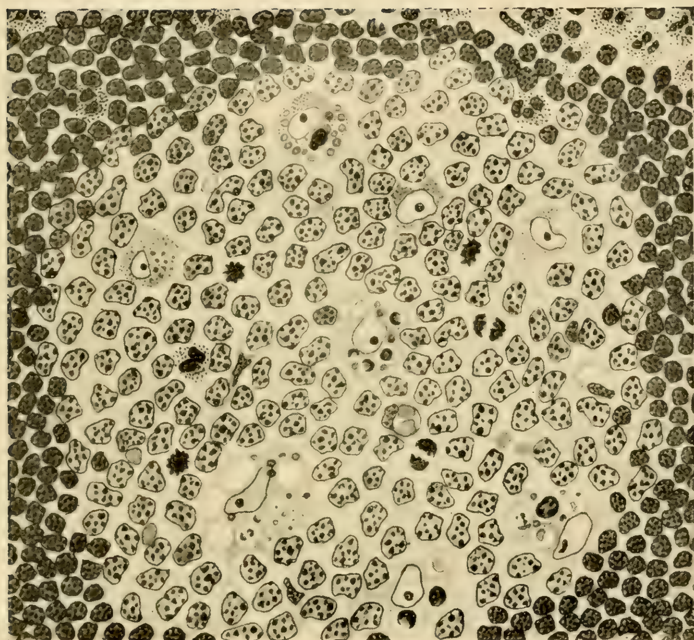


Fig. 1.—Centro germinativo de un folículo cerrado del apéndice vermiforme; distínguense abundantes células linfógenas (algunas en mitosis), y células formadoras de granos, en fases diferentes de su función. Método de Heidenhaim — fuchina — picro-índigo-carmín.

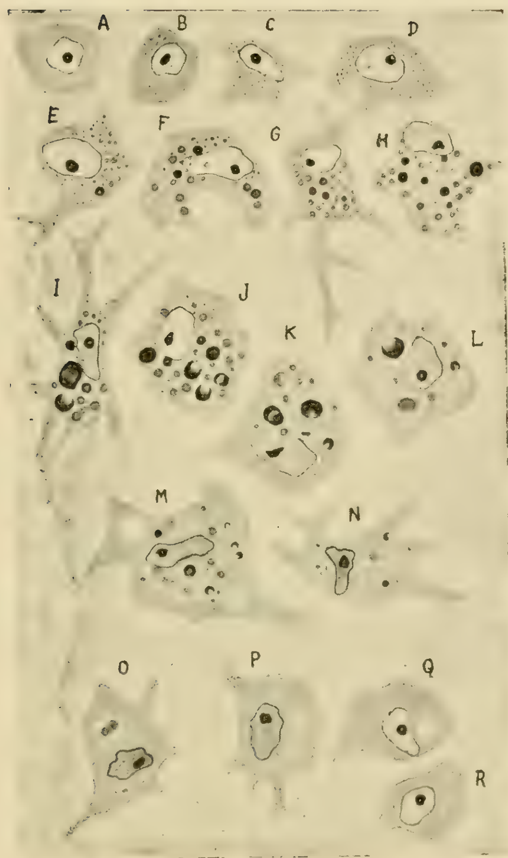
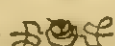


Fig. 2.—Células granulógenas del vermium de un hombre guillotinado.—A, elemento en reposo; B, C, D, formación de granos fuchinófilos; E, F, G, H, granos más voluminosos, tingibles en parte por la hematoxilina férrica; I, J, K, L, M, N, granos mayores en disolución progresiva; O, P, Q, R, células vacuoladas en regeneración; obsérvese que el núcleo de las células M, N, O y P, está algo encogido y es más obscuro.

solitarios del intestino, ni en los restantes órganos linfoides. Tan sólo hemos hallado elementos morfológicamente parecidos (1) en el intestino del mono (macaco), donde residen en bastante abundancia en las vellosidades, así por debajo del epitelio como en los planos profundos de la submucosa. La identidad morfológica de las células apendiculares y las del intestino del macaco es casi completa; su situación, en cambio, es muy diferente.

A falta de datos suficientes en que fundarlas, nos abstenemos de hacer conjeturas de orden filogénico respecto á estas células.



La neuroglia en la epilepsia experimental del conejo, obtenida con el nitrito de amilo

POR

L. FORTUN

Las alteraciones de la neuroglia en condiciones experimentales, es uno de los problemas que permite abordar, con probabilidades de éxito, el empleo de los nuevos métodos de impregnación, y principalmente, el del cloruro de oro y sublimado de Cajal. No hemos de recordar, una vez más aquí, las completas imágenes, constancia de teñido y demás ventajas del método. Repetidas comunicaciones á esta misma Sociedad, y últimamente las de los Sres. Sacristán y Achúcarro, sobre alteraciones observadas en animales hechos hipertiroideos — de estrecho parentesco, por lo que á la metodología se refiere, con la nuestra —, hablan por nosotros en este sentido.

Hemos producido nosotros en conejos adultos, de regular tamaño, ataques epilépticos, ó epileptiformes, más correctamente expresado, valiéndonos del nitrito de amilo en inhalación.

Anteriormente, entre las numerosas observaciones sobre la acción de este tóxico, fueron observados ataques convulsivos, é investigado su carácter por Brunton, Wood Krauss, Rieger, Tippel, etc., y no hace mucho tiempo por J. y H. Fischer, que de ello hace un cumplido estudio (2).

(1) Ningún autor ha mencionado la existencia de estas células en el intestino de ningún animal.

(2) *J. u. H. Fischer:* Tierexperimentelle Studien über Anylnitritkrämpfe. *Z. f. die ges. Neurol. u. Psych.* Bd. 22, Originalien, 1914.

Concluyen estos autores, después de convincentes y bien dirigidas experiencias, la existencia de un centro, verosímilmente localizado en el hipotálamo, que directamente irritado por el nitrito, sería el productor de las convulsiones. Demuestran, por otra parte, la decisiva influencia que sobre la forma, duración y estado después de los ataques, tienen las glándulas de secreción interna. No encuentran ningún particular hallazgo microscópico en sus autopsias.

El papel hormónico que á la neuroglia últimamente atribuye Achúcarro (1) con buena copia de datos; la influencia, pudiéramos decir indudable, de la neuroglia sobre el metabolismo y funciones de la neurona, establecen un motivo que hace interesante el asunto de nuestro trabajo, es decir, observar el comportamiento de la neuroglia en las condiciones en que nosotros nos hemos situado.

Siendo nuestro objeto la producción de modificaciones morfológicas, requeríase una intoxicación sostenida algún tiempo, ya que en la intoxicación aguda el predominio de los fenómenos generales y la fugacidad de la acción no son nada favorables á este fin. Hemos producido nosotros una intoxicación de forma subaguda (Nissl), administrando el tóxico una vez por día durante veinte á treinta, y por vía respiratoria. La cantidad usada de cada vez era una ampolla de las que prepara el comercio, ó 10 ó 12 gotas del nitrito de amilo, conservado en frasco bien cerrado.

Tardan en aparecer las fuertes convulsiones, que constituyen el punto álgido ó acmé del ataque, ocho ó diez minutos desde que se aplica la mascarilla portadora del nitrito. Son precedidas por erección, que aparece rápidamente, abundante lagrimeo, eliminación de saliva, aceleración de pulsaciones y de movimientos respiratorios. Al cabo de poco tiempo de la inhalación, se encuentra aumentado el tono muscular y se producen contracciones clónicas y movimientos desordenados, propios de un estado de excitación. Inmediatamente, precediendo á las fuertes convulsiones, opistótonos y grito inspiratorio. Durante el ataque, son las convulsiones sumamente intensas: el animal cae generalmente de lado; expulsa orina y excrementos y algunas veces se produce eyaculación. La pupila, que se encuentra dilatada, no reacciona á la luz. Hemos podido comprobar la ausencia de reflejo corneal durante este tiempo. Dura el ataque pocos minutos. Queda el animal después muy atontado y dispnóico. Se repone completamente al cabo, variable, de una media hora.

No hemos observado nosotros que se produjesen en el transcurso de la

(1) *N. Achúcarro:* Notas sobre la estructura y funciones de la neuroglia. *Trab. del Lab. de Invest. biol.*, tomo XI, 1913.—De l'evolution de la névroglie. *Trab. del Lab. de Invest. biol.*, tomo XIII, 1915.

intoxicación ataques espontáneamente, aunque la imposibilidad de una observación ininterrumpida impide negarlo rotundamente. En el intervalo de los ataques tampoco se ha podido comprobar ninguna alteración visible indicadora de un estado patológico. Unicamente se produjo una progresiva disminución de peso, más acentuada que en conejos que servían de testigo.

Antes de ocuparnos del aspecto que ofrece la neuroglia en los conejos que han sido materia de nuestro estudio, convendría decir algo sobre el que presenta en condiciones normales. En los trabajos que con el método del sublimado y cloruro de oro han hecho Cajal, su autor (1), y posteriormente Achúcarro (2) en diversas ocasiones, son ya señaladas las principales características y disposición fundamental de la neuroglia en esta especie. Pueden encontrarse, sin embargo, ciertas diferencias regionales en la distribución de la neuroglia, no mencionadas por dichos autores algunas de ellas, que interesa conocer al interpretar imágenes de posibles alteraciones. Por lo demás, constantemente se sujetan estas diferencias á dos hechos fundamentales conocidos, pero que desde luego conviene hacer constar: *a*) La distribución cuantitativa de la neuroglia es irregular; hay sitios donde se encuentra en mayor cantidad que en otros. *b*) Las formas y estructura celulares sufren ciertas variaciones en las diversas regiones del encéfalo. Claramente han sido establecidos por las observaciones de Achúcarro, sobre gliotectónica del Asta de Ammon, y posteriormente sobre la neuroglia de los vertebrados inferiores, ambos principios.

Pero, no desviándose la neuroglia de los conejos nitritizados marcadamente del tipo normal para evitar la pesada repetición de descripciones, reseñaremos el aspecto que en aquéllos presenta en las diversas partes del cerebro por nosotros examinadas, haciendo notar, cuando el caso se presente, las alteraciones que hayamos observado.

Corteza. — En la *capa plexiforme* está la neuroglia representada por células con diferenciación fibrosa, de expansiones largas no muy numerosas, en sí poco ó nada ramificadas, que se ven atravesar el soma en la proximidad del núcleo. Limitado por dos ó más fibras tangenciales, se ve un espacio claro, ligeramente granuloso, correspondiente al protoplasma, poco abundante (fig. 1, A). El aparato vascular está representado por una ó dos expansiones de la célula, no más gruesas que las demás, con el mismo aspecto, terminando sobre el vaso muchas veces en forma de cono. No se ven nunca en esta capa los granos negros vistos y dibu-

(1) *S. R. y Cajal:* Sobre un nuevo proceder de impregnación de la neuroglia y sus resultados. *Trab. del Lab. de Invest. biol.*, tomo XI, 1913.

(2) *N. Achúcarro:* Contribución al estudio gliotectónico de la corteza. *Trab. del Lab. de Invest. biol.*, tomo XII, 1914.

4

jados por primera vez por Achúcarro en conejos rábicos y posteriormente en preparaciones de conejo normal.

En la *zona superficial de las capas piramidales* (no decimos de las pequeñas pirámides porque, dada la forma en que se colorean las neuronas, no es posible especificar si es sólo en esta capa donde se encuentra la neuroglia que vamos á describir) se ven células de expansiones con tendencia al tipo fibroso, pero más cortas, abundantes y ramificadas que en el anterior estrato; poseen mayor cantidad de protoplasma (fig. 1, B). Encuéntrase la impregnación menos diferenciada á su nivel. Varias ramificaciones agrupadas ó independientes se dirigen á los vasos; asume, por lo tanto, el aparato vascular mayor importancia; termina por vueltas de espira alrededor del vaso, extendiéndose sobre él, ó por bucles no claramente impregnados.

Los vasos de un cierto tamaño, visibles muchas veces atravesando en sentido radial todo el espesor de la corteza, hállanse cubiertos por los pies, exquisitamente teñidos en forma de bucles y sortijas, en gran cantidad y tamaño, sumamente complicados, semejantes á los que Cajal dibuja en el gato y mucho más que los representados por él en el conejo normal (fig. 2). Son emitidos por células de las llamadas en ramillete (1): algunas de ellas encuéntranse directamente aplicadas sobre el vaso. No se observa en su número y proporciones un aumento, con relación á las demás células, correspondiente al de los pies. Es común su tipo á todas las capas grises de la corteza, sea cualquiera la estructura que la demás neuroglia presenta á su nivel. Parece, en este caso, la neuroglia determinada en su forma y estructura por la proximidad del sistema vascular y como emancipada de las demás condiciones que le crea el medio en que se encuentra.

Hállanse en este estrato pocas gliotecas. Aparecen aquí los granos negros, no muy abundantes, ni tampoco en todas las células; se ven indistintamente en las vasculares y en las otras, distribuídos en el soma y en las expansiones, pero más abundantes en aquél; encuéntranse no infrecuentemente en el pie vascular, tanto más cuanto es el carácter protoplásmico de éste.

En la *zona media de las capas piramidales* la neuroglia se ha ido enrareciendo y es visible en menor cantidad. Las células han perdido el carácter fibroso, pero aunque de tipo protoplásmico, discrepan considerablemente de las que en especies superiores se encuentran en parte similiar; no se ven los astrocitos bien teñidos, de abundantes expansiones profusamente dicotomizadas. Son células muy débilmente teñidas, de

(1) *Cajal:* Loc. cit.

menor tamaño que las del estrato anterior, con tres ó cuatro expansiones angulosas y de escasa ramificación, pero de la misma estructura granulosa que el soma (fig. 1, C). Los pies vasculares, casi sin teñir, aparecen desprovistos de todo realce. Son más abundantes que en el anterior estrato las gliotecas: también los granos negros.

En la *zona profunda de las pirámides y capa de las células polimorfas* aumenta en gran cantidad la neuroglia. Las células toman el tipo de la capa de las pequeñas pirámides, pero son mayores, con superior número de expansiones, más recias y enérgicamente imprégnadas. Un buen número de éstas, y generalmente independientes entre sí, se dirigen á los vasos. Los pies, bien teñidos, presentan la forma de bucles complicados y otras veces se extienden laminarmente. Son frecuentes células gemelas y formas de partición. Vense gliotecas y expansiones, que á una cierta distancia del soma neuróglico abrazan las células nerviosas. Son los granos muy abundantes (fig. 1, D).

En la *substancia blanca* las expansiones celulares se enrecian fuertemente y toman un aspecto tortuoso; son en corto número para cada célula. El núcleo se hace pronunciadamente excéntrico. Han despearecido por completo los granos.

Podemos distinguir en esta porción dos tipos: el propiamente intersticial con la forma descrita, de escasas prolongaciones, largas, algunas veces retorcidas en tirabuzón, que se encuentra situado entre los tubos nerviosos con lejanas relaciones con los vasos; el vascular, de núcleo más central, ramificación más regular, con una expansión más gruesa generalmente, que termina en un vaso en forma laminar envolvente ó de cono. Hállase este tipo con gran densidad, asumiendo el principal papel en la porción correspondiente al *Strata sagittalia*.

Para evitar la proligidad, no hablaremos de las pequeñas variaciones que se observan en las diversas regiones corticales. Unicamente mencionaremos, y más bien á vía de ejemplo, el aspecto que toman las células protoplásmicas de las zonas medias en el rinencéfalo. Mejor impregnadas, se ven de mayor tamaño y número de expansiones, más regularmente dispuestas, dicotomizándose á veces y con una cierta tendencia al aspecto vacuolar y espinoso de las prolongaciones. Recuerda más, por tanto, el aspecto de la neuroglia en los animales girencéfalos.

En el *Asta de Ammon*, haciendo un rápido recuento de sus capas, encontramos primeramente en el *alveus* células del común tipo, que hemos visto en la substancia blanca. Ya en el *stratum oriens* son las células del tipo de las capas piramidales superior y profunda, muy abundantes, con tendencia á la diferenciación fibrosa, pero con núcleo central rodeado de protoplasma y buen número de expansiones poco ramificadas por su parte,

Contienen granos, aunque no en gran cantidad. Terminaciones vasculares sencillas. Existen muchas células gemelas. En el *stratum lucidum*, casi no hay células neuróglicas; casi siempre se encuentran en el borde de las zonas limítrofes. Penetran frecuentemente las expansiones de las células neuróglicas desde estas capas, situándose entre y alrededor de las neuronas que constituyen el estrato. En el *stratum radiatum*, las células son del tipo de las capas profundas de la corteza, pero de mayor tamaño y en más considerable número. Pies de bucles complicados en gran cantidad. Son frecuentes las formas gemelas. Las expansiones celulares, recias y bastante largas, son muy abundantes. Preséntanse los granos en bastante cantidad. En la parte superior del asta, en sección transversal, ó sea en la proximidad de la zona de transición con el resto del pallium, es claramente manifiesta esta hipertrofia de la neuroglia. Las expansiones de las células muy voluminosas toman un aspecto más fibroso; es de notar, que en estas células enreciadas no se encuentran los granos negros. En el *stratum lacunosum* son las células del tipo de la substancia blanca, principalmente de carácter vascular y en bastante número. Con prolongaciones muy gruesas y más bien tortuosas, nunca dicotomizadas, enérgicamente teñidas en negro, sobre todo la expansión ó expansiones que se dirigen á los vasos donde terminan en forma de trompas, ó por división en varias ramas envolventes; forman estas expansiones en torno del vaso un plexo, bastante entremezclado y de cierto espesor, en forma de forro. En la *capa molecular ó plexiforme*, última del asta y primera de la *fascia dentata*, las células son de carácter semejante al de las capas superficiales de la corteza. En la de los *granos* no se ven células casi. En la *capa de las células polimorfas*, la neuroglia es de células fibro-protoplásmicas de escasas expansiones y de corto tamaño. Caracterízase por la exigüidad de los pies vasculares en cantidad y proporciones y la ausencia de granulaciones negras.

En el *cuerpo estriado* es la neuroglia de tipo protoplásmico semejante al de las zonas medias de la corteza, pero teñida con más energía. Son frecuentes las células satélites. Las formas de transición fibro-protoplásmicas encuéntranse á veces y generalmente en relación con los vasos.

En el *septum* es la neuroglia sumamente abundante y con facilidad impregnable, de tipo fibro-protoplásmico semejante al del *stratum radiatum del Asta de Ammon*, pero las expansiones son, en general, menos abundantes y más gruesas. Son frecuentes células gemelas, tetradas y acúmulos de núcleos, células monopolares insertas en los vasos. No se observan en esta región granos. Los pies vasculares parecen de transición entre los tipos de la substancia gris y los de la substancia blanca.

En la porción anterior del *tálamo óptico* existe diferencia entre los nú-

cleos superiores que presentan una neuroglia semejante á la del cuerpo estriado y los núcleos inferiores (región subtalámica é *infundibulum*), donde la neuroglia muy abundante forma voluminosos acúmulos alrededor de los vasos y debajo del epéndimo. Están formados por el entretejido de los pies vasculares de gran grosor, terminados por trompas que se extienden sobre el vaso, procedentes de células dispuestas en torno. La demás neuroglia hállase representada por bien teñidas células del tipo fibro-protoplásmico.

Encuéntranse debajo del epéndimo tupidos plexos de fibras de neuroglia en forma de placas. Con preferencia pueden observarse en el tálamo en los puntos de entrada de los vasos; á nivel del Acueducto de Silvio encuéntrase á veces esta disposición.

Algunos datos debemos hacer notar en la descripción somera que precede, por lo que se refiere á los pies vasculares y á las granulaciones negras. 1) Hemos visto que la terminación en bucles únicamente se encuentra en la substancia gris, así como los recios pies terminados por trompas ó por extensión sobre el vaso, que forman casi un plexo á su alrededor, son propios de la substancia blanca, en ciertos lugares de preferencia. 2) Para cada clase de pies corresponde una forma celular distinta: las células protoplásmicas, débilmente teñidas, sin diferenciación fibrosa, siempre emiten expansiones vasculares débiles, de terminación mal ó nada impregnada. Los pies en bucles y sortijas proceden siempre del tipo en ramillete, y donde quiera que éste se encuentra terminan siempre en la misma forma. La terminación en recios pies sencillos es propia del tipo que hemos descrito como vascular de la substancia blanca. En aquellos puntos, como sucede en el septum, por ejemplo, en donde la neuroglia sumamente enreciada, se asemeja á la de la substancia blanca, los pies vasculares terminan en sortijas sencillas de ramas gruesas, extendidas sobre el vaso con un aspecto de transición entre ambos tipos. 3) Por otra parte, tanto los pies de complicados bucles, como los muy voluminosos y abundantes de la substancia blanca, sólo se observan sobre los vasos de regular tamaño; no es dable verlos nunca sobre los capilares. La presencia de la adventicia en aquéllos y su ausencia en éstos, hace pensar en una posible relación entre ambas formaciones. 4) Es un hecho ya mencionado (por Achúcarro varias veces) é indudable la influencia del sistema vascular sobre la presencia y cantidad de neuroglia en los diversos territorios cerebrales; en nuestras preparaciones, como hemos visto más arriba, puede observarse constantemente esta correlación entre tejido neuróglico y vasos.

Por lo que se refiere á los granos negros, despréndese del examen de nuestro material. 1) Que sólo se encuentran en la neuroglia de la subs-

tancia gris; no se ven nunca en la substancia blanca. 2) Aun dentro de la substancia gris, cuando las células se enrecian considerablemente, desaparecen estos granos (véase la zona limitante del Asta de Ammon con la demás corteza; también lo que ocurre en la región subtalámica y septum). 3) Su mayor abundancia va unida al desarrollo del aparato vascular (es, por ejemplo, mayor su número en las células profundas de la corteza, del stratum oriens y radiatum, que en las protoplásmicas de la misma corteza del cuerpo estriado, ó núcleos superiores del tálamo. En la capa de las células polimorfas de la fascia dentata, donde casi no se ven pies vasculares, no existen los granos).

Parece, pues, estar limitada su presencia, de un lado por la diferenciación fibrosa de la célula; de otro, por la disposición del aparato vascular.

Tratando ahora de definir cuál sea la clase de lesión que acabamos de describir en los conejos nitritizados, podemos desde luego afirmar que se trate de una hiperproducción neuróglica, general, no muy pronunciada, preferentemente manifiesta en determinados lugares, pero conservando la disposición y distribución normal. Especificar si es ésta una hipertrofia de carácter progresivo, funcional ó regresivo, esclerósico, es ya cuestión menos fácilmente determinable, y en cuya solución ha de decidir la idea que acerca de las funciones de la neuroglia se mantenga. Si se admite el papel metabólico y secretorio de esta estructura, las imágenes antes examinadas, por su extensión, desarrollo preferentemente vascular, conservación del tipo normal, etc., inclinan á creer que se trata de una hipertrofia por exageración funcional, progresiva por lo que se refiere á esta estructura por lo tanto.

En algunos sitios, sin embargo, y recuérdese á este propósito lo que ocurre en el Asta de Ammon, toma tal predominio y aspecto fibroso la neuroglia, que parece como si se tratase de una esclerosis localizada. También los crecimientos perivasculares pudieran interpretarse en este sentido como producidos por alteraciones propias de los vasos. Recordemos también aquellos sitios donde desaparecen los granos, formaciones que verosímilmente denotan una función activa.

Se presenta con esto la cuestión del carácter fibroso de la neuroglia en el conejo, señalado ya por Cajal y Achúcarro, y su significación. Suponen ambos autores, en general, que la neuroglia con diferenciación en fibras, es un tipo regresivo y senil; en los animales jóvenes sólo se encuentra el tipo protoplásmico, que en épocas ulteriores se diferencia.

Está, en nuestras preparaciones, en pugna con este criterio de hipoactividad neuróglica de este tipo, el hecho de que precisamente tomen tal aspecto fibroso las células con más importante aparato vascular, te-

L. Fortún. — **La neuroglia en la epilepsia experimental del conejo, obtenida con el nitrito de amilo.**

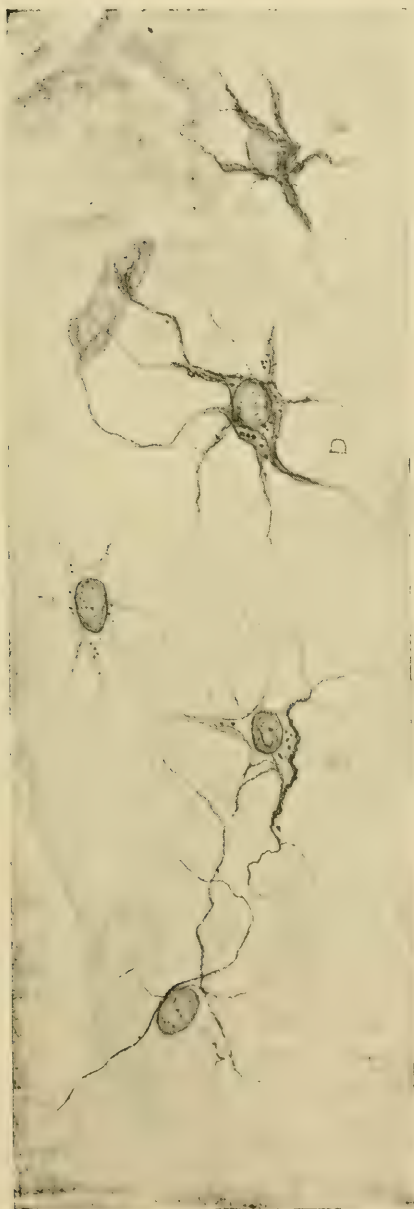


Fig. 1.—Corteza cerebral. Area post-centralis.— A, capa plexiforme ; B, C, D, capas piramidales (superficial, media y profunda); E, substancia blanca ; conejo nitritizado.



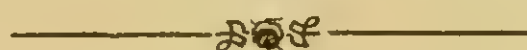
Fig. 2.—Corteza cerebral: Capas medias; pies vasculares en forma de bucles y sortijas.

niendo en cuenta, como dice Cajal, que «el aparato chupador constituye no sólo una disposición constante de los astrocitos de la substancia blanca, sino uno de los factores neuróglicos más importantes de los centros», y «su constancia é importancia en todos los animales y edades, denotan un papel fisiológico de primer orden», é incluso en aquellos puntos donde la neuroglia es protoplásmica, toma la forma fibrosa (fibro-protoplásmica) en la proximidad de los vasos.

Si recordamos que en la substancia blanca se distinguen por la excentricidad del núcleo é irregularidad del soma las células no vasculares, tal vez tengamos en estos caracteres más seguro signo de la inferioridad funcional que parece presentar esta clase de neuroglia.

Hagamos notar, por último, la mayor claridad de las alteraciones en el Asta de Ammon y región subtalámica, y recordemos la frecuencia de modificaciones histopatológicas del Asta en la epilepsia humana, y las conclusiones de J. y H. Fischer sobre la participación del subtálamo é infundibulum en la producción de los ataques.

Es digno de atención este hecho, por las conclusiones que de él pueden sacarse acerca de la histología y patogenia de la epilepsia.



Un nuevo método para la determinación de la pepsina del jugo gástrico

POR

F. ALDAY REDONNET (1)

Principio. — Una disolución de protargol en ácido clorhídrico permanece clara, si se tiene por espacio de media hora en la estufa, mientras que en presencia de pepsina se enturbia, más ó menos rápidamente, según la cantidad de fermento.

Disolución de protargol. — Disuélvase en frío 2 gramos de protargol en 100 cent. cúb. de agua destilada (esta disolución se conserva sin alterarse durante unos días); en el momento de usarse, mézclese unos centímetros cúbicos de esta disolución con igual cantidad de ClH $^{n}/_{10}$ (esta disolución se altera pronto, por lo que es necesario prepararla nueva para cada experimento).

Determinación cualitativa de la pepsina. — Para demostrar la presencia ó ausencia de pepsina en un jugo gástrico, se pone en un tubo

(1) Esta comunicación fué expuesta en la sesión del mes de Febrero. Se publica aquí por la tardanza con que el autor ha remitido el original.

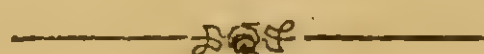
de ensayo 5 cent. cúb. de éste, y en otro tubo igual cantidad de ClH de acidez 30. A ambos se les añade 5 cent. cúb. de la disolución de protargol en ClH, y se introducen en la estufa, á 37°, por espacio de media hora; pasado este tiempo, se observará que el líquido existente en el tubo que contenía el jugo gástrico, estará turbio (si es que tenía pepsina), mientras el otro (testigo) permanecerá claro. Existen jugos gástricos, especialmente los cancerosos, que en presencia de la disolución de protargol se enturbian, por precipitar la albúmina, etc., que contienen; en estos casos conviene emplear en el tubo testigo, en lugar de la disolución de ClH, jugo gástrico inactivado por el calor.

Determinación cuantitativa. — En una serie de tubos de ensayo pónganse cantidades decrecientes del jugo gástrico cuya pepsina queremos investigar: en el primero, 5 cent. cúb.; 4 en el segundo; 3 en el tercero, y en los otros, 2, 1, $^1/_2$, $^1/_4$ de cent. cúb.; en otro, que se empleará como testigo, no se pone nada. Complétese en todos, con ClH de acidez 30, hasta que tengan 5 cent. cúb., y añádanse á cada uno 2 cent. cúb. de la disolución de protargol. Se meten en la estufa, donde se tienen por espacio de media hora, y, pasado este tiempo, se comprueba (comparando con el testigo) á qué dilución se ha alterado el protargol, pudiendo deducirse de ésta la cantidad de fermento que contenía.

Si el jugo gástrico fuese anaclorhídrico, conviene acidificarle previamente.

La exposición á la luz solar, ó la adición de unas gotas de agua sulfhídrica, favorece la distinción del enturbiamiento de unos tubos á otros.

(Trabajo del Laboratorio de Terapéutica y Consulta de enfermedades del aparato digestivo de la Facultad de Medicina de Madrid).



Nuevas alteraciones en el sistema nervioso de animales hipertiroidizados

POR

N. ACHÚCARRO



Desde algún tiempo tratamos de encontrar pruebas histológicas de una supuesta correlación funcional entre las glándulas de secreción interna (especialmente tiroides y suprarrenales) de una parte y la neuroglia cerebral considerada por nosotros como una estructura endocrina. Algún

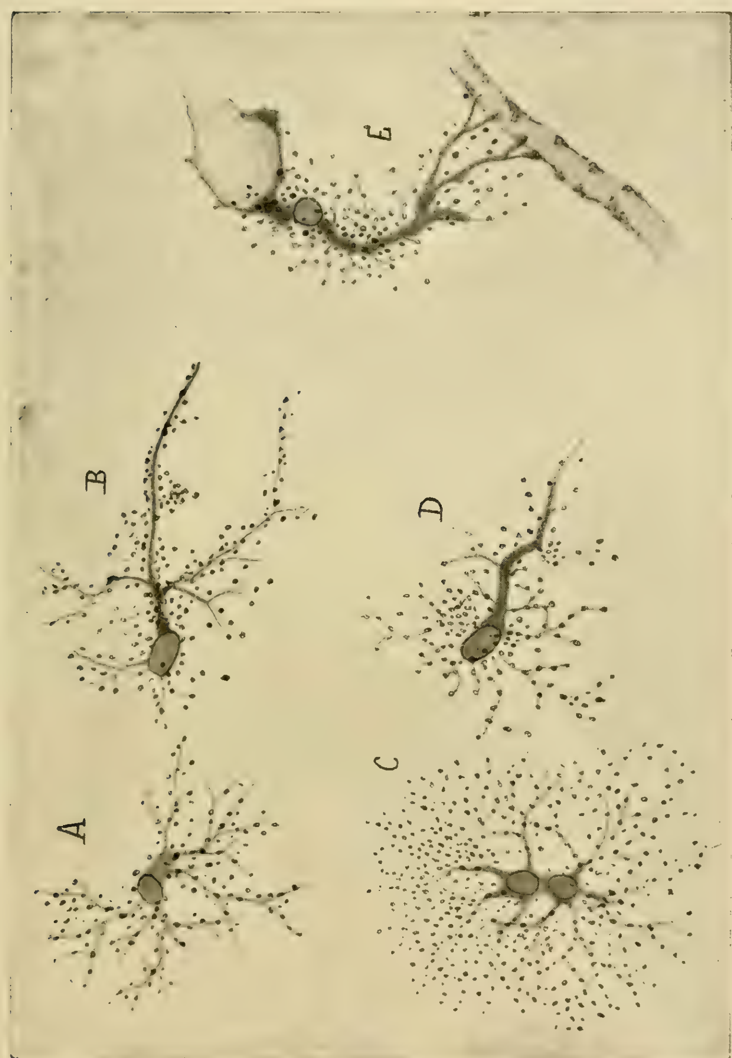


Fig. 1.— Células neuróglicas cargadas de granitos auróﬁlos en el cuerpo estriado de las palomas hipertiroidizadas. La célula E se implanta por un lado en un vaso, y por el otro parece envolver á una célula nerviosa.

resultado dieron mis ensayos de intoxicación con la adrenalina (1), pero nos parecieron mayores pruebas de la influencia de la perturbación de las secreciones internas en la neuroglia las encontradas por Sacristán (J. D.) en el conejo muerto á consecuencia de inyecciones repetidas con extracto de bocio de Basedow. El conejo mencionado, intoxicado por el Dr. Marañón, sufrió un adelgazamiento considerable y se encontraba en un estado de excitabilidad extraordinaria.

La neuroglia del cerebro se hallaba hiperplásica y muy especialmente se manifestaba esta alteración en los pies vasculares que se extendían sobre los vasos en forma de forros, disposición inusitada en el conejo normal.

En la literatura médica hay pocos estudios histológicos del sistema nervioso en las intoxicaciones experimentales y únicamente Simchovicz (2), en trabajo recientemente publicado, estudia sistemáticamente las lesiones encontradas en el sistema nervioso de perros y conejos alimentados con tiroidina del comercio. Estas lesiones son constantes y degenerativas en su mayor parte.

Simchovicz ha estudiado sus animales con métodos poco á propósito para la demostración de la neuroglia y por eso el único resultado útil para nuestras investigaciones es el haber señalado que de un modo constante existen alteraciones histológicas del sistema nervioso en los animales tiroidizados.

Respecto á la neuroglia no nos da Simchovicz otras alteraciones que alguna señal de proliferación y la presencia en algún caso de células preamiboides y amiboides.

Nuestras actuales investigaciones han sido practicadas en palomas, á las cuales el Dr. Marañón ha tratado con un extracto de bocio de Basedow extirpado á un enfermo. Según el Dr. Marañón, el adelgazamiento se presentó en este caso como en los conejos, pero los síntomas de irritabilidad y el exoftalmo no existían como en los conejos.

Al cabo de un período de tratamiento de un par de meses, las palomas fueron sacrificadas. Sin perjuicio de dar más tarde una cuenta detallada del estudio histológico del cerebro de estas palomas, voy á avanzar un dato encontrado ya en el cuerpo estriado de las dos palomas examinadas con el método del cloruro de oro de Cajal.

Las células neuróglicas se tiñen en las aves con alguna palidez; pero dejan ver claramente su naturaleza protoplásmica. En nuestras prepa-

(1) Estos resultados no han sido publicados aún.

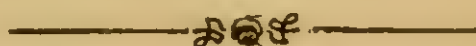
(2) *Simchovicz:* Histologische Veränderungen im Nervensystem bei experiment. Thyreotoxikose. Zeits. f. d. ges. Neur. u. Psychiatrie, 1916



raciones se ven sitios en donde existe una hipertrofia neuróglica considerable; pero lo que más nos ha interesado ha sido la presencia de células rodeadas de granos intensamente teñidos por el oro. Estos granos parecen sueltos á un examen superficial; pero, examinados con cuidado, se ve que en su mayor parte están unidos á las ramas principales de la célula por finas trabéculas. Estas células, cargadas de granos dorados, no son muy abundantes; pero las hemos encontrado en los dos casos hipertiroidizados, y contrastan con las células vecinas aún no examinadas las preparaciones con la inmersión.

Con cierta inseguridad, pues serían necesarias más observaciones sobre este punto, podemos considerar estas células como anormales. En cuanto á interpretarlas como fases primeras de una degeneración especial ó como un estado de hiperfunción especial, nos faltan en absoluto datos para ello.

Sólo queremos consignar como un dato más para el estudio de las variaciones estructurales nerviosas consecutivas á alteraciones glandulares, la presencia de estas células en las palomas hipertiroidizadas. La figura 1 da una idea del aspecto de estas células.



SESIÓN DEL 28 DE ABRIL DE 1916



Contribución al estudio de las células de Rieder

POR

JULIAN REGUEIRO LÓPEZ



Definición. — En general se comprende bajo el nombre de células de Rieder (así llamadas en homenaje al autor que las describió por primera vez) una forma patológica de glóbulos blancos de citoplasma más ó menos basófilo, cuya característica esencial la constituye la forma irregular del núcleo.

En el lenguaje científico se tiende siempre á sustituir los nombres propios por el de algunas de las propiedades que integran principalmente el objeto de estudio. Así, pues, muy justamente el Dr. Pittaluga llama á estas células «dismorfocariocitos», palabra que ya implica su cualidad esencial, es decir, células con núcleo de forma irregular.

Motivos de estudio. — Son los dismorfocariocitos uno de tantos elementos hematológicos acerca de los cuales no se ha hecho un estudio definitivo; son muy escasos nuestros conocimientos respecto á su origen, forma y estructura.

Referencias de la literatura hematológica. — A pesar de la multiplicidad de trabajos hematológicos que incesantemente se suceden en estos últimos diez años y que hacen de la hematología una rama importantísima indispensable del saber médico, son, sin embargo, bien escasos los que se refieren á las células que motivan nuestro trabajo, y aun hematólogos como Grawitz apenas si las mencionan.

Stenberg llamó á estas células «sarcoides», sobre cuya naturaleza basó el concepto de que las leucemias agudas y crónicas eran afecciones sarcomatosas.

Naegeli en un principio creyó se trataba de linfocitos patológicos,cuyo origen no era de naturaleza mieloide; pero ya en su obra admite que estas células pueden tener su origen indistintamente en la serie mieloide ó linfoide, no aduciendo, sin embargo, prueba alguna, limitándose exclusivamente á decir «linfocitos patológicos de núcleo polimorfo en las linfo-adenias y mieloblasto patológico en las mielosis».

Pappenheim y Ferrata, basándose en la semejanza de su estructura nuclear y en la presencia de nucleolos, creen que se trata de hemocitoblastos (gran linfocito de Pappenheim) de atípica maduración, viejos, cuya maduración precoz da lugar á la vejez nuclear, que es la que le permite su forma irregular, así como la que le imposibilita para diferenciarse en el sentido mielocitario ó linfocitario.

Rieux dice: el gran linfocito no siempre se presenta al examen con una morfología tan típica. En ciertos casos, particularmente en las leucemias agudas, mieloides ó linfoides, presenta ciertas alteraciones estructurales que le alejan del tipo normal, pero todavía muy próximo á éste, pues conserva sus caracteres, es decir, la dimensión y pobreza de su citoplasma basófilo que rodea el núcleo; mas éste está ya algo modificado: de esférico y regular, se hace abollonado; se surca y ahueca por asas raramente profundas; se forma en sus contornos, salientes generalmente, no muy prominentes. La forma es un poco aberrante, sin ser, sin embargo, atípica. Estos caracteres, en un grado más avanzado, le alejan completamente del tipo normal. Se presentan granulaciones azurófilas, primero discretas, luego abundantes; el núcleo muestra un polimorfismo muy acentuado, que primeramente le asemeja al núcleo de los masteleucocitos, y luego, al de los polinucleares neutrófilos. En fin, el citoplasma se hace abundante y siempre provisto de granulaciones azurófilas. Estas

formas, bastante alejadas del tipo normal, es lo que en Alemania se describe con el nombre de células de Rieder.

Martelli cree que los dismorfocariocitos jamás faltan en las leucemias ya agudas, ya crónicas; lo mismo de naturaleza mieloide que linfoide; así como en la anemia perniciosa, progresiva, como en las intoxicaciones, afecciones estas últimas que nada tienen que ver con las neoplasias, como quieren Stenberg y Banti, y hasta pueden reproducirse experimentalmente. Para Martelli deben ser estas células más exactamente interpretadas como función atípica de maduración del hemogonio ó hemocitoblasto; de esta manera es posible comprender cómo pueden observarse tanto en las leucemias mieloides como linfoides, y con mayor frecuencia en las formas agudas, en las cuales, junto con los numerosos mieloblastos y linfoblastos, hacen en extremo difícil el diagnóstico diferencial; y, finalmente, parece que pueden cambiar rápidamente la fórmula hematológica de estas leucemias agudas, por efecto de una evolución de un cierto número de tales hemocitoblastos, en elementos diferenciados menos atípicos, esto es, en mielocitos ó linfocitos, fenómeno que, interpretado erróneamente, hizo creer á algunos autores que una leucemia linfoide podía transformarse en una mieloide.

Decastello considera también estas células como elementos de naturaleza linfoide, ya por el carácter de su estructura nuclear, ya por su basofilia, que, desviándose de su normal desarrollo, terminan su vida en formas atípicas.

Material de estudio. — Nosotros hemos procurado valernos, para nuestro estudio, de diversos casos clínicos. Primeramente revisamos las preparaciones de la caja del Laboratorio de Hematología (Dr. Pittaluga), donde se encuentran, entre otras, preparaciones de sangre de una enferma, Claudia Pedraza, diagnosticada de leucemia esplenomieloide, y preparaciones de otros dos enfermos, uno diagnosticado de sífilis, Wassermann débilmente positivo, y otro de espleno y hepatomegalia con ictericia, cuyas fórmulas leucocitarias figuran ya con numerosos dismorfocariocitos. La sangre del primer enfermo es enormemente rica en característicos ejemplares de estas células.

En las salas del Dr. Madinaveitia, del Hospital General, recogimos preparaciones de varios enfermos, diagnosticados: tres de sarcoma gástrico, uno de insuficiencia aórtica, otro de disentería, otro de tuberculosis pulmonar y otro de cirrosis hepática. Todos presentaban dismorfocariocitos.

En las salas del Dr. Goyanes comprobamos también lo mismo en un enfermo de quiste hidatídico supurado, dos de carcinoma gástrico, uno de sarcoma del maxilar superior y otro de sarcoma de cadera.

En la consulta de la Facultad de Medicina del profesor Dr. Pittaluga comprobamos también la presencia de dichas células en un enfermo de tuberculosis pulmonar.

Métodos de investigación. — Creemos oportuno describir brevemente algunos de los procedimientos más importantes de técnica hematológica, pues recordarlos todos no tendría objeto.

a) Primeramente, para hacer una buena extensión ó frotis es indispensable una limpieza esmerada en los porta-objetos; éstos se lavan primero con agua, se secan y con un paño humedecido en alcohol ó éter se frotan y luego con otro paño seco se secan muy bien, pues no estando bien limpios y secos la sangre no se adhiere. El porta, sobre el cual va á practicarse la extensión, debe colocarse sobre una superficie blanca y dura, y con otro porta, igualmente limpio, y con uno de los bordes más cortos, perfectamente liso, se toman dos ó tres gotitas de sangre, con las que hacemos la extensión por deslizamiento de derecha á izquierda. La región del enfermo, en la cual tomamos la sangre, debe estar también perfectamente limpia y seca.

b) La fijación debe dar como resultado el que, al actuar las substancias colorantes, no se produzcan alteraciones morfológicas en la estructura celular.

La fijación puede obtenerse por tres procedimientos:

1.° Físicos, como el calor.

2.° Químicos (alcohol, éter, ácido ósmico, etc., etc.).

3.° Por medio del tiempo.

Ehrlich fué el primero que usó el calor; puede utilizarse una estufa á 110 ó 120° ó también una platina, que se calienta con una lámpara de alcohol ó con un mechero Bunsen por espacio de cuarenta segundos.

Procedimientos químicos.— El alcohol absoluto es muy empleado, pero es necesario que sea realmente de 100°; el que circula corrientemente en el comercio como tal no tiene más allá de 97 á 98°; sin embargo, nosotros podemos corregir este inconveniente valiéndonos del sulfato de cobre; la fijación cura de diez á quince minutos.

Nikiforoff propuso la mezcla de alcohol y éter á partes iguales con objeto de corregir el inconveniente del alcohol absoluto comercial. La fijación dura de cinco á quince minutos.

El empleo del ácido ósmico es útil para la fijación de figuras celulares en movimiento.

Coloración. — La coloración de las células de la sangre, lo mismo que las de otro tejido cualquiera, está basada en la propiedad que tienen sus diversos componentes de asumir de un modo constante ciertas substancias colorantes.

La razón de la electividad cromatófila es todavía bastante obscura, no pudiendo establecerse si se trata de una combinación química ó simplemente de un fenómeno de absorción.

Prescindimos del examen detallado de todos los procedimientos de técnica hematológica. Solo daremos someros detalles acerca de los métodos de coloración más frecuente empleados por nosotros en este estudio.

a) *Triácido de Ehrlich.* — Es un colorante de función ácida, que está compuesto de soluciones acuosas concentradas de fuchina ácida y naranja, que son ácidos, y solución de verde de metilo, que es neutro.

Fijación por el calor; coloración, tres á cinco minutos.

Las granulaciones neutrófilas toman un color rojo violeta, las eosinófilas color rosáceo. El núcleo aparece verde pálido y el citoplasma rosa pálido.

b) *Pappenheim.* — Compuesto de pironina y verde metilo. Muy buen método para el estudio de la estructura nuclear, que aparece azul, con el nucleolo rojo, así como el citoplasma.

Fijación por el calor ó alcohol; coloración de tres á cinco minutos.

c) *Hematoxilina y eosina.* — Estas dos substancias pueden emplearse aisladamente ó asociadas.

Fijación con alcohol metílico de tres á cinco minutos ó con alcohol absoluto durante veinte minutos; coloración, una ó dos horas si se emplea la fórmula de Ehrlich.

Las granulaciones eosinófilas aparecen de color rosa, muy manifiestos; el citoplasma de los neutrófilos encarnados. Los núcleos se colorean en violeta.

Es un método muy bueno para conservación.

d) *May-Grunwald.*—Está compuesto de azul de metileno y eosina.

Fijación, durante dos ó tres minutos, con la misma solución colorante, á la que después de este tiempo se agrega igual cantidad de agua destilada, actuando esta solución de cinco á diez minutos; lavar y secar.

Las granulaciones eosinófilas aparecen en rosa vivo; las neutrófilas en rosa pálido; las basófilas en violeta, ó los núcleos, violeta también.

La combinación de este método y del de Giemsa constituye el llamado método panóctico universal de Pappenheim.

Se procede para este método de la siguiente manera: una vez seca la preparación, se le agrega el colorante May-Gruwald, que actúa sólo durante tres á cinco minutos; luego se agregan algunas gotas de agua; esta solución actúa durante tres á cuatro minutos. A continuación se pasa á la solución de Giemsa (una gota por cada centímetro cúbico de agua) durante cuatro á cinco minutos.

Lavar con agua y secar con papel secante.

Los núcleos aparecen de un color violeta; el citoplasma, azul claro; las granulaciones azurófilas, rojo púrpura brillante; las mastzellen, azul obscuro; los eosinófilos, rojo ladrillo; los neutrófilos, de un color rosa.

Nosotros hemos empleado para el estudio de nuestro trabajo el procedimiento preferentemente de Giemsa y algunas veces el de Pappenheim (pironina verde de metilo).

El método de Giemsa es un excelente revelador del conjunto de los caracteres leucocitarios, así como de técnica fácil y rápida.

Este colorante está constituído á base de la siguiente fórmula:

Azur II..................................	3	gramos.
Eosina R. A..................................	0'8	—

Estas dos substancias se pulverizan finamente y se agregan á 250 centímetros cúbicos de glicerina pura, cuya mezcla se lleva á la estufa á 60° cerca de una hora; luego se retira y se deja enfriar, agregando entonces 250 cent. cúb. de alcohol metílico. Para este método se emplea la fijación por la mezcla, á partes iguales, de alcohol y éter, ó alcohol puro, por espacio de diez á quince minutos.

En este intervalo de tiempo preparamos una solución acuosa del colorante en la proporción de una gota por 1 cent. cúb. de agua siempre que se quiere proceder rápidamente, pues una vez fijada la preparación, se colorea por espacio de quince á veinte minutos; á continuación se lava con agua corriente, se seca y se procede á su examen con el objetivo de inmersión 1/12. Si se quiere proceder más lentamente, veinticuatro horas, no es necesario emplear más que media gota de colorante por centímetro cúbico de agua.

No hemos de pasar por alto un pequeño detalle de técnica empleado en nuestro Laboratorio. Consiste éste en colocar las preparaciones dentro de una caja Petri, ú otro recipiente cualquiera, con la cara de extensión mirando al fondo del recipiente, y separadas ambas superficies por dos pequeños travesaños de cristal. Una vez así dispuestas ambas superficies, vertemos el líquido colorante entre ellas, haciendo que bañen uniformemente la superficie de extensión. Esto tiene la gran ventaja, sobre el procedimiento seguido corrientemente, de verter el líquido encima de la superficie de extensión, de que no se forman precipitados, lo que puede contribuir erróneamente á ocultar detalles de importancia.

Con este ligero bosquejo de técnica pasamos á estudiar los caracteres de las células de Rieder, fundándonos sobre todo en las imágenes reproducidas de nuestras láminas.

CARACTERES. — a) *Dimensiones.* — Son los dismorfocariocitos, en ge-

neral, células de gran tamaño, de 12 á 15 micras, alcanzando algunas veces el tamaño de los grandes mieloblastos, mononucleares grandes, ó también á los llamados forma de tránsito; otras veces alcanzan aproximadamente el volumen de los linfoleucocitos de Pappenheim, ó mononucleares de tamaño mediano. Nosotros hemos encontrado casi siempre células de tamaño grande, siendo muy poco frecuentes las de tamaño pequeño. Por las figuras de nuestras láminas, exageradas la mayor parte en un tercio de la imagen óptica del 1/12, bien se puede ver que siempre resultan de tamaño superior á las representadas en láminas como las de Ferrata.

b) *Forma.* — La forma es irregular, generalmente redondeadas (figuras 1, 10, 13, 22, 24, etc.), ú ovaladas (figs. 2, 3, etc.); otras veces forman salientes (figs. 29, 30 y 31).

c) *Citoplasma.* — La red citoplásmica es unas veces intensa y uniformemente basófila (figs. 2, 3, 6 y 10); otras veces la basofilia es más acentuada en la periferia celular (figs. 15, 22, 32, 37 y 43), dando, por tanto, un borde de citoplasma diferenciado.

No es infrecuente encontrar dismorfocariocitos con una basofilia bastante tenue (figs. 1, 33, 43 y 44).

Las mallas citoplásmicas son unas veces apretadas, dando un aspecto homogéneo; otras veces son filamentos finos, escasos, que limitan pequeños espacios claros, alvéolos, repartidos uniformemente por la superficie citoplásmica.

d) *Granulaciones* (Substancia roja de Decastello). — En algunas células (figs. 11, 16, 23, 39 y 47) se ve una substancia rojo pálida, en forma de pequeños filamentos entrecruzados con los filamentos basófilos y sin guardar relación alguna con el núcleo, como quiere indicar Decastello, pues este autor dice que dicha substancia rodea generalmente al núcleo ó le forma una media corona, aunque luego agrega que también se puede encontrar repartida por la superficie citoplásmica, y aun á veces imprimiendo cierto grado de colorabilidad á los filamentos basófilos, cuyas imágenes se ven reproducidas en las tablas 5.ª y 6.ª de su trabajo. La substancia roja se ve también, en la figura 46 de nuestra lámina, formar un semicírculo denso, compacto, en la parte periférica de la célula.

e) *Granulaciones propiamente dichas.* — En la actualidad se aceptan las granulaciones de los dismorfocariocitos como granulaciones azurófilas, pequeñas, sin anillo claro á su alrededor, cuyos caracteres las hace más semejantes á las granulaciones de los mononucleares grandes que á las de los linfocitos. En nuestras láminas (figs. 1, 6, 7, 8, 9, 10, 42 y 43) se ven granulaciones más ó menos abundantes, de tamaño desigual, unas

gordas y otras finas; en algunas figuras (44) destacan perfectamente por su tamaño. Algunas granulaciones son de contornos precisos; en otras aparecen borrosos. En la figura 1 existen las granulaciones en gran cantidad, muy desiguales, mucho más numerosas en la parte más periférica de la célula que hacia el centro, lo que unido á la escasa basofilia del citoplasma, pudiera hacer creer que se trataba de un polinuclear neutrófilo. En cambio, en la figura 43 son estas granulaciones muy escasas y agrupadas en una pequeña extensión alrededor de un segmento del núcleo.

No puede afirmarse el grado de relación entre la basofilia y las granulaciones, ni tampoco con la forma nuclear, pues aparecen indistintamente en las formas unicelulares (fig. 8) y multilobulares (fig. 45). Decastello dice que algunas veces las granulaciones azurófilas pueden llegar á tomar una forma filamentosa.

Nosotros no nos atrevemos á formular un juicio definitivo acerca de estas granulaciones, pues para ello sería preciso practicar otros métodos de técnica, por ejemplo, triácido de Ehrlich, May-Grunwald, etc., pues Engel no acepta las granulaciones de los grandes mononucleares como azurófilas sino como neutrófilas, y el mismo Ferrata advierte en la lámina X (figs. 29, 30, 31 y 32) que no se confundan con polinucleares neutrófilos. Por nuestras figuras más se parecen á granulaciones neutrófilas.

f) *Núcleo.* — El estudio del núcleo, en relación con los caracteres citoplásmicos, constituye, como hemos dicho al definirlas, la característica fundamental de estas células.

g) *Forma.* — Generalmente no es posible comparar la forma del núcleo á una imagen determinada. Unos tienen forma de una seta (fig. 19); otros foliácea (fig. 3).

Es un núcleo con múltiples salientes y depresiones ó escotaduras, más ó menos pronunciadas, que le dan un aspecto raro, dentellado (figs. 6, 8, etc.). Ferrata dice que cuando en el contorno nuclear se manifiestan esos salientes, es cuando la célula muestra la primer fase hacia la forma atípica.

Otras veces son dos glóbulos independientes, unidos por una especie de cuello ó varios cuellos (figs. 10, 11, 36, 41 y 43).

Es bastante frecuente ver dos glóbulos quizá independientes, pero superpuestos (figs. 14, 16, 22 y 27), cuya superposición se aprecia por los contornos del núcleo colocado probablemente por encima, formando en su límite como un espesamiento de la cromatina, que tiene un punto de enfoque distinto, así como una dirección irregular.

También pueden apreciarse tres núcleos superpuestos más ó menos independientes (figs. 4, 13, 30, 39 y 40).

También se encuentran células de Rieder multiglobuladas (figs. 2 y

32), cuyos glóbulos son unos grandes y otros pequeños, como apéndices (figs. 32 y 38). Decastello dice que el núcleo puede tener una forma en espiral, en roseta ó acaracolado.

Como se ve por las figuras de nuestras láminas, la forma del núcleo no guarda relación alguna con la intensidad de la basofilia del citoplasma, así como tampoco con las granulaciones.

h) *Cromatina.*— La red cromática unas veces se presenta con formaciones densas, gruesas, dando al núcleo un aspecto casi homogéneo (figuras 1, 6, 7, 9, 10 y 36); otras veces, siendo las mallas gruesas, no son muy abundantes, ofreciendo cierto grado de flojedad que da al núcleo un aspecto reticulado, y aun á veces la cromatina es muy escasa (figs. 17, 22 y 27). También puede verse cómo en unas células los núcleos presentan distinta densidad cromática, firme y apretada en un segmento ó núcleo (figs. 22, 23, 34, 43, etc.) y floja en otros.

La situación es muy diversa. Unas veces central y otras más ó menos excéntrica.

i) *Membrana nuclear.* — En algunas células parece dibujarse una membrana nuclear, sobre todo cuando son glóbulos nucleares superpuestos (figs. 4, 13, 14, etc.).

j) *Nucleolos.* — Nosotros hemos hecho algunas preparaciones con el procedimiento de Pappenheim (pironina verde de metilo), y en ninguna de las imágenes de células de Rieder hemos podido comprobar la presencia de nucleolos.

k) *Figuras carioquinéticas.* — Nunca hemos observado figuras carioquinéticas.

Interpretación. — En general, todos los que se han ocupado de estas células las asignan tal ó cual origen sin razón de gran valor. Todavía no podemos precisar si estas células se forman en los órganos hematopoyéticos ó si tiene lugar su formación en el torrente circulatorio. Claro está que esta última cuestión no tiene lugar en la teoría unicista de Virchow; pero aun para los de esta antigua escuela surge la pregunta: ¿qué célula ó células son las que dan origen á la célula de Rieder?

El Dr. Pittaluga considera estas células como procedentes de la serie mieloide, lo que abona en su favor la falta de nucleolos, seguramente, pues en la serie mieloide los nucleolos desaparecen después del mieloblasto, mientras que en la serie linfoide permanecen en todas las fases.

Y, por último, algunas granulaciones son marcadamente neutrófilas.

Nuestro modesto trabajo no nos autoriza á emitir juicio acerca de los varios problemas que surgen con relación á estas células.

Sólo podemos afirmar: 1.°, nuestras figuras representan positivamente las propiedades que en la actualidad se asignan á las células de Rieder;

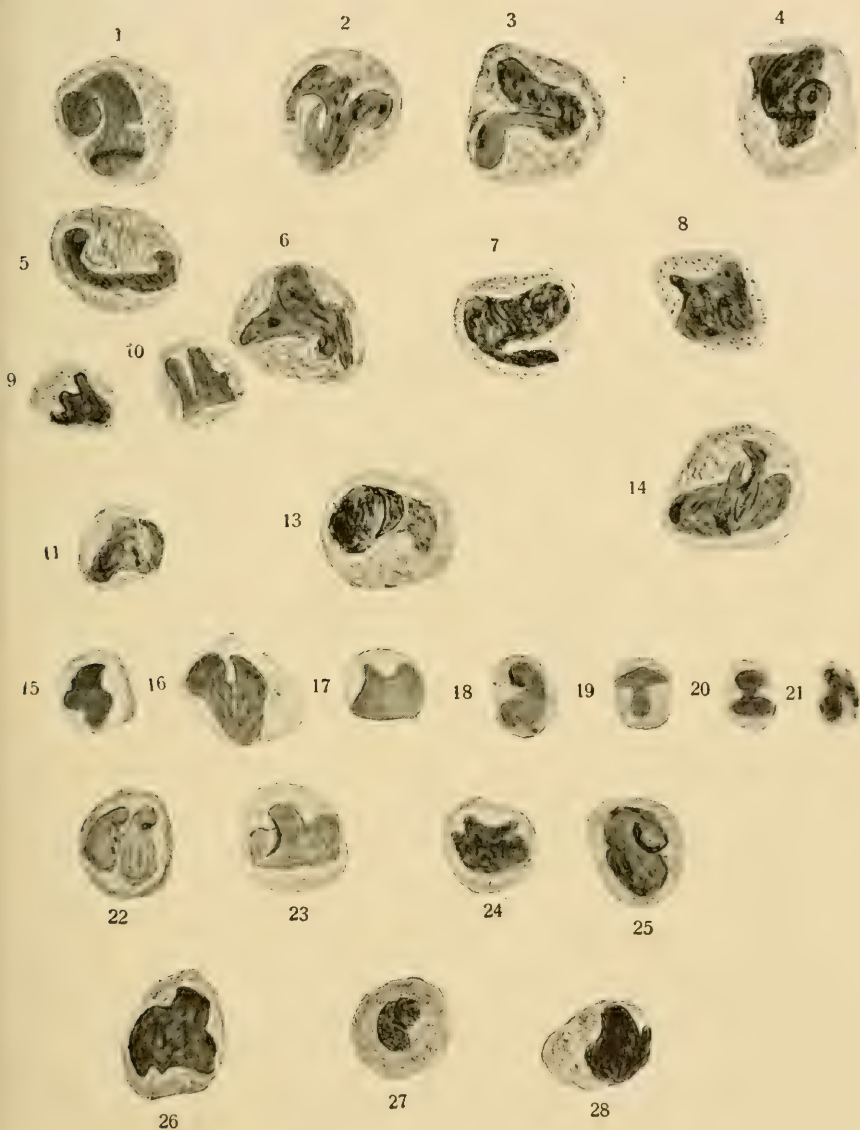


Lámina I.

Núms. 1-14, sarcoma gástrico; 5, glóbulo blanco, forma de transición; 6-10, tuberculosis pulmonar; 11-14, quiste hidatídico supurado; 15-21, leucemia esplenomieloide; 22-25, cirrosis hepática; 26 (enfermedad febril, poca duración. Ignorado diagnóstico); 27, infección intestinal; 28, linfocito.

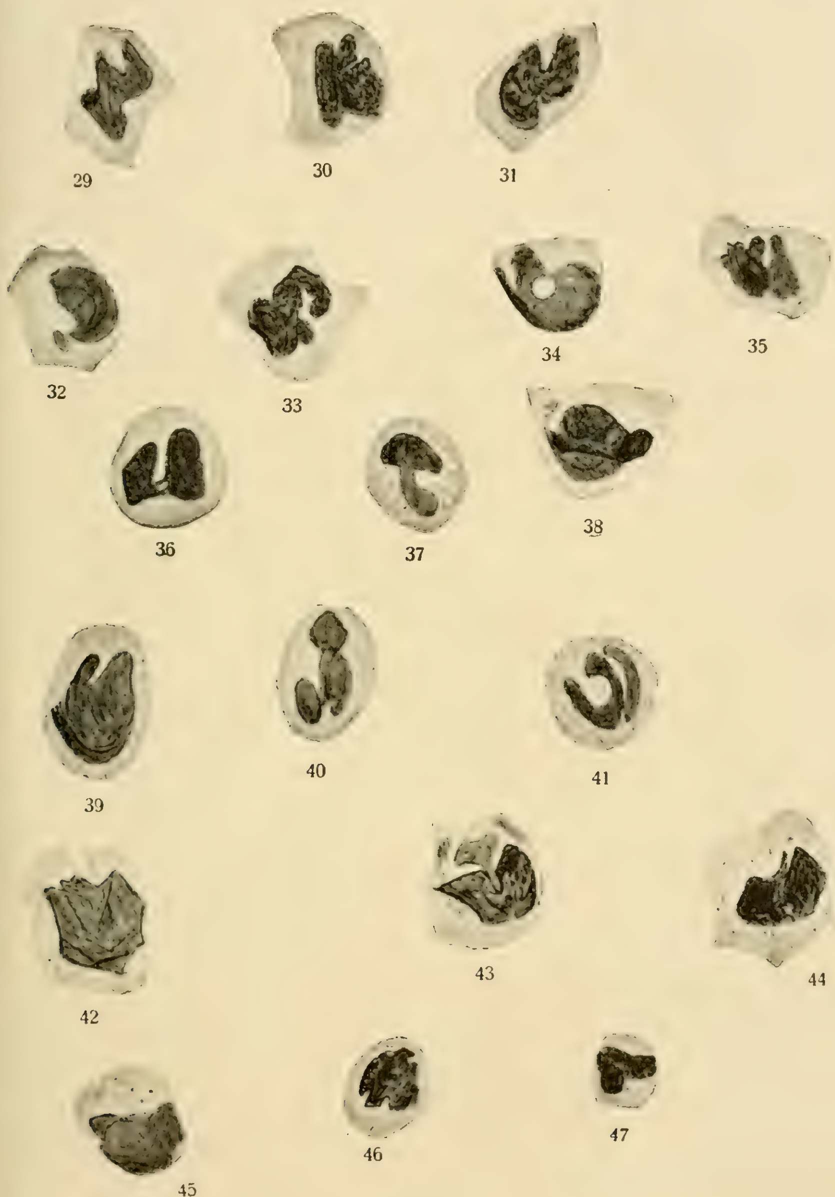


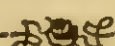
Lámina II.

Núms. 29-31, insuficiencia aórtica; 32-36, disentería; 37-38, tuberculosis pulmonar; 39-42, sarcoma maxilar superior; 43-44, sarcoma de la cadera ; 46-47, hiperclorhídria.

2.º, son relativamente frecuentes, pues en el número de casos por nosotros observados las hemos encontrado en todos, excepto alguna enferma de anemia de Banti; 3.º, dada la frecuencia con que las hemos encontrado en enfermos con afecciones que directamente no guardan relación alguna con enfermedades de la sangre de entidad clínica, no podemos creer tengan la significación específica que se les ha atribuído por varios autores.

Bibliografía. — Pueden consultarse acerca de esta materia: Ferrata: Morfologia del sangue normale e patologico, 1912. — Rieux: Precis d'Hematologie, 1910. — Gilbert et Weimberg: Traité du sang., 1913. — Decatello: Struktur des Blutzellen, 1911. — Martelli: Malatie dei Sangue. Turín, 1913. — Naegeli: Pathologie des Bluts. Leipzig, 1912. — *C. R. Phatol.*, pág. 341.

(Trabajo llevado á cabo en el Laboratorio de la Facultad de Medicina de la Sección de Hematología, bajo la dirección del profesor Dr. Gustavo Pittaluga).



Aislamiento y cultivo del bacilo de Koch en medios sólidos á base de huevo

POR

JULIO BLANCO

De los numerosos medios propuestos para el aislamiento del bacilo de Koch, pocos son los que han prevalecido en la práctica. Todos ellos pueden dividirse en dos grupos, descartando desde luego los medios líquidos, aunque también en ellos se ha intentado conseguir siembras directamente del material patológico. Nosotros obtuvimos con papilla de bazo, extendida sobre red de platino mantenido nadando sobre caldo glicerinado por cuatro flotadores de corcho, colonias exuberantes en los bordes pero el tejido ensucia el caldo y las manipulaciones necesarias para evitarlo son engorrosas y se prestan á impurificaciones.

Los dos grupos en que hemos dicho pueden dividirse los medios, son: Uno el de los especiales para aislarlo de productos impurificados con otras bacterias, como esputos, pus de accesos abiertos, etc. Otro el de medios utilizables para productos no contaminados. Los de ambos sirven, como es lógico, para sembrar cultivo puro. Entre los del primer grupo, el agar de Hesse, cuya composición es bien conocida, ha sido el más empleado. Según su autor, después de un espacio de tiempo, variable entre unas

horas y tres días á 37°, se puede, por medio de Klatch preparados, observar los sitios de la placa donde sólo se ha desarrollado el bacilo de la tuberculosis y obtener de ellos cultivo puro. Yochmann, Fränckel, Römer y Ficker confirman la bondad del medio y observan además los dos últimos igual crecimiento en agar común cuando, como en el agar de Hesse, se restriega sobre su superficie esputo, pus, etc., atribuyendo á las albúminas del material sembrado el principal papel en el crecimiento de los primeros días.

Spengler sustituye la substancia de Heyden por somatosa y, para evitar con seguridad el crecimiento de las demás bacterias, lo que no siempre se consigue con el de Hesse, aprovecha la mayor resistencia de las de la tuberculosis al formol y somete el esputo, antes de sembrarlo, á la acción de los vapores de formalina. Piatkowski añade el formol al esputo emulsionado en caldo glicerinado.

Siguiendo este camino y en vista de que ni en el primitivo medio de Hesse ni en las modificaciones de Spengler, Yochmann, Piatkowski, etcétera, se lograba con seguridad matar los gérmenes que con frecuencia le impurifican, según Sorgo, Marchetti y Devoretz posteriormente han demostrado, Uhlenhut y muchos autores más tratan el material patológico con antiformina al 25 por 100 en estufa y luego lo siembran ya sobre Hesse ó simplemente en agar glicerinado, suero bovino con ó sin glicerina, patata, medio al seso, etc. La antiformina no es indiferente para el bacilo de Koch. Si se emplean soluciones débiles, quedan á veces saprofitos vivos y con seguridad los esporulados. Si se usan fuertes al 50 por 100 ó puras, menos los esporos, mueren, á las dos horas de permanencia en la estufa, todas las bacterias que no sean ácido-resistentes; pero el bacilo de Koch pierde la propiedad de germinar en los medios artificiales. Infecta todavía al conejillo, pero no crece ó lo hace tardíamente y con grave detrimento de su virulencia. *Resumiendo:* Cuando el material es puro, cualquiera de los medios actualmente más usados, á saber: suero bovino, patata glicerinada, medios de Ficker ó las modificaciones de los mismos y los medios al huevo, de que en seguida me voy á ocupar, son buenos. Cuando está impurificado, si es líquido, no vale lavarlo; ni la antiformina, ni la ericolina, ni sembrar en Hesse. Si es sólido y está impurificado sólo en la superficie, el lavado va bien. Si ya germinaron microbios en su espesor, estamos en el mismo caso que cuando es líquido y hemos de recurrir al animal para obtener cultivo puro. No teniendo, pues, un procedimiento seguro para separar el bacilo de Koch de las otras bacterias, siempre que tengamos interés en cultivarlo, hemos de emplear simultáneamente las siembras y la inoculación al conejillo ó para ahorrar eventuales pérdidas de trabajo y material sólo á la

inoculación, y esto es lo que se hace en la mayoría de los Laboratorios. A partir del cobaya, ya es muy fácil aislarlo. El medio preferido debe ser distinto, según el fin que se persiga; pero debe llenar siempre las condiciones siguientes: Favorecer crecimiento rápido. No perjudicar la virulencia. Evitarnos, á ser posible, nuevo pase por tubo antes de sembrar en caldo; esto es, que nos dé colonias confluentes que formen rápidamente costra y no colonias sueltas, grandes y moruladas, pero inútiles para los caldos. Que nos ponga de manifiesto algún carácter sobre el tipo del bacilo para irnos orientando sobre la naturaleza bovina ó humana del mismo. Patata, suero y agar glicerinados, y los medios de Ficker á base de seso, son los más usados á este fin. El agar glicerinado es muy bueno para observar las diferencias entre el bovino y el huevo ó para conservar los cultivos. No es tan bueno para obtener cultivo puro por ser poco consistente y muy liso. No se puede frotar en él como es necesario para repartir los gérmenes de manera que, al crecer, den costras en la primera siembra. Otro tanto puede decirse del suero y de los medios con seso. Sin que esto signifique que crezcan mal los bacilos ni que sea imposible de primera intención conseguir cultivo confluente. Todo el que los haya empleado, los habrá obtenido alguna vez; pero no es la regla. Sobre el aislamiento sobre órganos informaré en el próximo curso. La patata glicerinada al 5 por 100 es excelente medio; sólo tiene el inconveniente de que las costras son muy porosas y se hunden con frecuencia, y los velos del agua son demasiado finos.

En 1902 recomendó vivamente Dorset, de Norte-América, el empleo de un medio á base de huevo. Mucho antes Capaldi (en 1896) había usado medios adicionados de yema con excelente resultado. En 1910, Park y Krumwiede, de la Comisión oficial norte-americana para investigación sobre tuberculosis, lo aceptan como el preferible. En Inglaterra es igualmente muy empleado por la Comisión inglesa desde hace varios años, y en Alemania y Francia cada vez se usa más.

En el Instituto de Koch tuve ocasión de comprobar por mí mismo las excelencias de este medio, por lo cual me decidí desde luego á usarlo en España.

Su preparación es sencilla: se reduce á mezclar el huevo batido con el 10 por 100 de su volumen de agua estéril; repartir en tubos y tindalizar. *Esta fórmula es inferior á la propuesta por Libenau* en el *Hygienische Rundschau*, quien emplea, en lugar del agua, el tercio del volumen del huevo batido de caldo glicerinado al 5 por 100. Esta modificación es la aceptada en Alemania.

El crecimiento en este medio es excelente, como puede verse en los cultivos que presento. Su consistencia es lo suficientemente firme para

permitir frotar y repartir uniformemente el material. El crecimiento puede observarse á simple vista á los ocho y diez días, y al cabo de tres semanas las colonias confluyen formando costra, ligeramente rugosas, compactas, excelentes para obtener velo.

Cuando el material que sirvió para la siembra fué muy pobre en bacilos, para conseguir cultivo abundante basta con frotar con el asa la superficie del medio á los ocho días de su permanencia en la estufa. Las costras se levantan bien con espátula fina de platino.

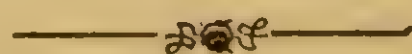
Nosotros modificamos este medio para ver si lográbamos crecimiento todavía más rápido asociando á partes iguales huevo y seso reducido á fina papilla y añadiendo el tercio de caldo glicerinado. Con esta modificación crecen efectivamente con más rapidez y exuberancia; pero el ser más caro y engorroso de preparar nos ha hecho abandonarlo.

Usamos con excelentes resultados, como puede verse en los cultivos, esta otra modificación, más fácil de preparar y donde crecen los bacilos admirablemente sin duda por los elementos minerales que se incorporan con el agua de cocción de la patata. Se prepara así:

Se baten dos huevos en vaso estéril sin levantar espuma y se les añade el tercio de su volumen del agua de cocción de patata con el 5 por 100 de glicerina. Este agua se prepara cociendo patatas limpias y finamente picadas con tres veces su volumen de agua durante quince minutos; filtrar y añadir el 5 por 100 de glicerina estéril. Una vez mezclado el huevo con el tercio de su volumen de este agua, se reparte en tubos y se coagula, manteniéndolos dos horas á 70°. Al día siguiente se tendrá otras dos horas á 70° y el tercer día se eleva á 80° ó 90°. Puede hacerse la esterilización en dos días, en cuyo caso es conveniente hacerlo calentando á 80° ó 90°. Mayores temperaturas son perjudiciales. (Conservar en fresquera).

*
* *

Deseo hacer constar aquí mi agradecimiento al Dr. Tello, Jefe de la Sección de Epidemiología del Instituto de Alfonso XIII, donde trabajo, por las facilidades de todas clases que para su realización me ha proporcionado.



Sobre la estructura sincitial del corazón

POR

L. CALANDRE Y A. NAVARRO

La cuestión de si la estructura del corazón afecta una constitución celular ó sincitial es un asunto interesante y actualmente todavía debatido. Unos autores, como Zimmermann, Palczewska y Werner, se atienen á la concepción clásica celular sostenida en otro tiempo por Weismann y Eberth. Otros como Heidenhain, Marceau, Jordan, Steele y Bardin, defienden la idea de que el miocardio forma un todo continuo, un verdadero *sincitium* en el que las miofibrillas pasan de un haz muscular á otro sin que exista una verdadera delimitación de territorios celulares. La existencia de las piezas intercalares (Schaltstücke), interrumpiendo á trechos el curso de las fibras, es la que ha motivado estas distintas estimaciones.

La cuestión está por resolver definitivamente y es difícil decidir en este punto ateniéndose sólo á los detalles morfológicos que nos ofrece el estudio del miocardio adulto. Habrá que buscar más elementos de juicio en la embriología, investigando cuáles sean las fases anteriores del desarrollo de las fibras cardíacas. Ya otros autores han emprendido investigaciones por este camino, investigaciones cuyo resumen á grandes líneas es el siguiente:

Según Goldewski, en el embrión de conejo de catorce días el corazón consta de células mesenquimatosas ramificadas, ricas en protoplasma, puestas en relación las unas con las otras. Después estas células se multiplican intensamente y se aproximan; al mismo tiempo los espacios intercelulares van disminuyendo y finalmente se fusionan todas las células en una única masa protoplásmica salpicada de núcleos. Según este autor, habría primero un tejido celular que después se convertiría en un *sincitium*, en el cual se iría diferenciando más tarde el material estriado. También para Kurkiewitz los mioblastos del corazón, independientes en un comienzo, se fusionan más tarde en un todo continuo. En esta masa primero homogénea, es, pues, en donde han de aparecer las miofibrillas. Sobre cuál sea el mecanismo al que deban su origen estas miofibrillas hay gran disparidad de pareceres.

Heidenhain, teniendo en cuenta que el corazón embrionario se contrae antes de que las miofibrillas sean histológicamente perceptibles, suponía

que estas fibrillas, antes de ser visibles microscópicamente, están ya preformadas *metamicroscópicamente* como ristras moleculares, las cuales después, gracias al proceso asimilatorio, adquieren visibilidad microscópica.

Según Goldewski, aparecen en los mioblastos unos gránulos discretos que después se ordenan en serie y se fusionan en líneas homogéneas, las cuales segmentándose después secundariamente, dan lugar á la estriación definitiva de la fibrilla.

Para Marceau no existe ese estadio inicial granuloso, presentándose como miofibrillas homogéneas en las cuales más tarde aparecen gránulos, primero sencillos y luego pareados, que darán origen á los dos hemisegmentos de la banda obscura de la estriación.

Para Meves y Duesberg, según sus investigaciones en el embrión del pollo hechas con el método de Benda, el material para la constitución de las miofibrillas procede de las mitocondrias; éstas, primitivamente esferoidales, se alargan después generando largas fibrillas sin estrías; más adelante diferénciase en ellas la estriación bajo la forma de granos brillantes que corresponden á las rayas de Krause, alternando con largos bastoncitos constitutivos de los discos obscuros.

Nosotros intentamos con este trabajo, presentar una contribución á estos estudios y una confirmación del origen mitocondrial de las miofibrillas. Nuestro material de estudio ha consistido en corazones adultos de hombre, de carnero, de vaca y de perro, y en corazones de feto de vaca y de gato. Hemos tenido especial cuidado en emplear material completamente fresco. Nos hemos servido del método de la hematoxilina férrica de Heidenhain y del método de Achúcarro, dejando permanecer los cortes en tanino frío durante veinticuatro horas, pues de este modo se tiñen con selección los detalles del material estriado.

Los fetos que hemos tenido ocasión de estudiar estaban ya en un estado de desarrollo lo bastante avanzado para que no les hayamos encontrado en esa primera fase descrita por Goldewski y Kurkiewitz, en que los mioblastos forman células independientes antes de fusionarse. Lo que nosotros encontramos en nuestros corazones más primitivos, teñidos por la hematoxilina, es una masa protoplásmica única, salpicada de núcleos elípticos, gruesos, abundantes, próximos entre sí y paralelamente dirigidos. En los buenos preparados con el método de Achúcarro, encontramos en la masa sarcoplásmica una infinidad de corpusculitos, unos á modo de granos, pero en su mayoría en forma de pequeños bastoncitos, diversamente orientados, pero con gran tendencia á dirigirse longitudinalmente en la misma dirección que los núcleos. A estos corpusculitos los tenemos por mitocondrias.

En fases más avanzadas del desarrollo del corazón hemos observado, y esto nos parece de gran interés, que los bastoncitos mitocondriales diseminados en un principio, comienzan á disponerse en cadenetas unos á continuación de otros; en estas ristras, las mitocondrias se aproximan por sus extremos, pero sin llegar á ponerse en contacto. Nunca hemos visto que se fusionen para formar filamentos homogéneos, sino que conservan ya de aquí para siempre, su disposición entrecortada, primer esbozo de los segmentos claros y obscuros de la estriación definitiva de las miofibrillas.

Más adelante lo que eran filamentos mitocondriales engruesan y se hacen fácilmente tingibles por la hematoxilina férrica; y si se las observa con detenimiento se ve que este engrosamiento lo realizan principalmente por los extremos.

Estas fibrillas, orientadas longitudinalmente, son primero escasas y se hacen luego más abundantes por un proceso de división longitudinal, como ha demostrado ya Heidenhain. Todo esto puede observarse claramente en la microfotografía (fig. 1); en ella pueden verse fibrillas formadas por bastoncitos delgados, de un espesor uniforme (A), extendiéndose á veces por largos trayectos. Los artículos de cada fibrilla conservan siempre una misma longitud; pero en cambio se les ve en muchos sitios ir aumentando progresivamente su espesor, siendo este aumento más pronunciado en los cabos del bastoncito, á la par que se estrecha por su centro, que adquiere entonces una figura que pudiéramos comparar á la de un cacahuet (B); cuando ha adquirido ya un espesor considerable, se escinde por la mitad, á lo largo, y da la apariencia de una tetrada (C). Esta escisión longitudinal se acentúa cada vez más, y termina por bifurcarse la fibra, originando otras dos (D), constituídas á su vez por trabéculos nuevamente delgados. En este estadio da el miocardio un aspecto de bastante homogeneidad; vense por todas partes correr las fibrillas, paralelas á la dirección de los núcleos ó ligeramente oblicuas, continuándose las unas con las otras y sin delimitar territorios especiales. Si estas miofibrillas elementales crecen longitudinalmente ó no, es cosa que no podemos asegurar.

En corazones que ya han alcanzado la vida extrauterina, pero aún jóvenes, se ve cómo las miofibrillas contiguas se han aproximado unas á otras y forman haces más ó menos robustos (fig. 2), que llevan los núcleos colocados en el eje y que ofrecen su estriación transversal característica, de bandas claras y obscuras, que resultan de la aproximación á la misma altura de las piezas claras y obscuras de las miofibrillas contiguas. Estos haces musculares están bien limitados lateralmente por el sarcolema y por un delicado forro de tejido conectivo reticular, como se

ve manifiestamente en la preparación (fig. 3) hecha con el método de Achúcarro.

En cambio, á estos haces no se les encuentra delimitación por sus extremos, pues se les ve continuarse con los inmediatos sin mostrar límite alguno.

Más adelante aparecen las piezas intercalares; son éstas una formación tardía que aparece en el corazón completamente constituído. Un buen ejemplo nos lo ofrece la figura 4, perteneciente á un corazón humano adulto. Esta banda transversal, que constituye la pieza intercalar, no es homogénea, sino que, según se desprende de las observaciones de Hoche y Heidenhain, confirmadas por Achúcarro y nosotros, está constituída por una empalizada de finos bastoncitos, que serían como delgados puentes, por los cuales las fibrillas elementales de la fibra muscular se continúan á través de esta estructura.

De este modo no sería, pues, interrumpido el curso de las miofibrillas por la pieza intercalar.

De estas observaciones nuestras, que pensamos completar más adelante, nos parece poder entresacar las siguientes conclusiones:

1.ª El miocardio, en un cierto período del desarrollo fetal, está formado por una masa sarcoplásmica salpicada de núcleos, y en la que el método de Achúcarro descubre la existencia de abundantes mitocondrias, en su mayoría afectando forma de bastoncito. Estos bastoncitos, alineándose en la dirección de los núcleos, forman ristras que son el primer esbozo de las miofibrillas.

2.ª Nunca hemos visto que las mitocondrias se fusionen para formar un filamento homogéneo, que luego habría de fragmentarse secundariamente, como describen Marceau y Meves.

3.ª Los artículos de cada miofibrilla se engruesan progresivamente y luego se escinden longitudinalmente hasta terminar por bifurcarse, dando origen así á dos miofibrillas con los artículos nuevamente adelgazados y verificándose de este modo la multiplicación longitudinal. En estos estadios las fibrillas cruzan paralelamente la masa sarcoplásmica, siguiendo una dirección predominante, sin que se puedan delimitar territorios celulares.

4.ª Reuniéndose cada cierto número de estas miofibrillas, forman los haces ó fibras musculares, individualizados lateralmente por un forro de tejido conectivo, pero cuyos extremos, por el contrario, se continúan con los territorios vecinos, pasando las miofibrillas de un haz á otro, sin marcarse límite celular alguno.

5.ª Las piezas intercalares son una formación tardía, que no interrumpen completamente el curso continuo de las miofibrillas, ya que los pali-

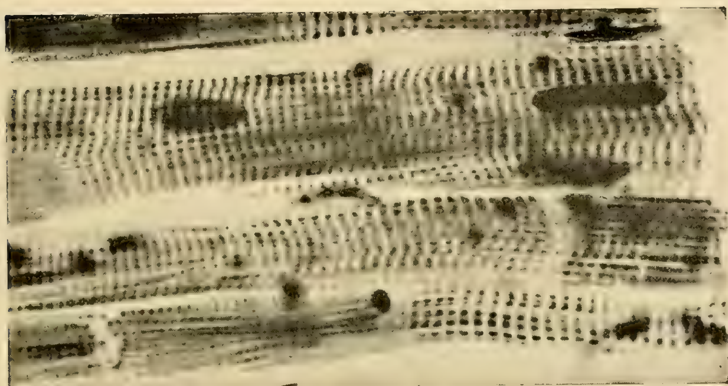


Figura 2.

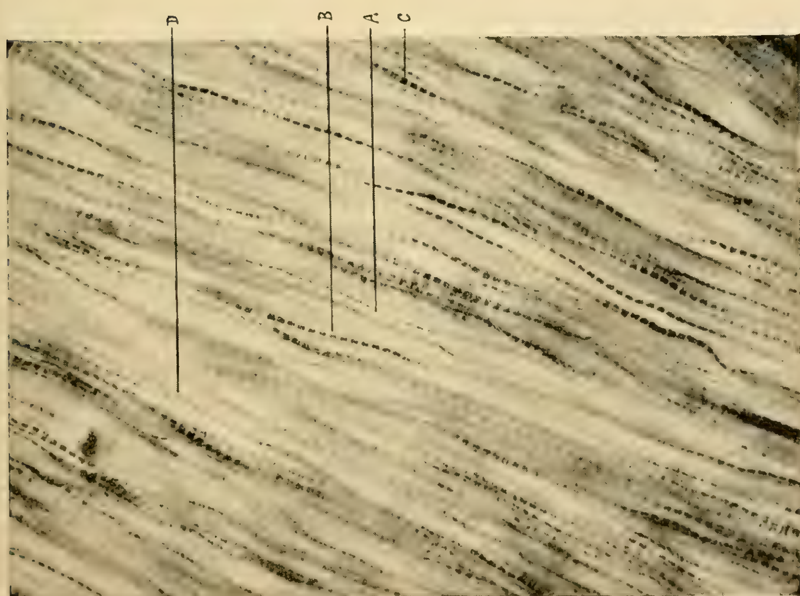


Figura 1.

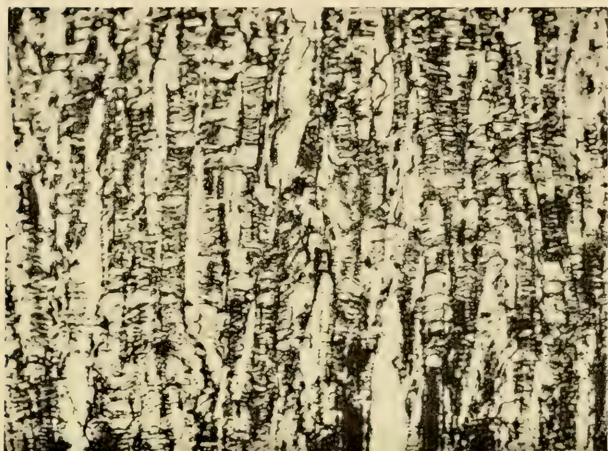


Figura 3.



Figura 4.

tos de la empalizada que la constituyen hacen como de puente de paso para las fibrillas de un lado al otro de la banda intercalar.

6.ª No nos parece que pueda hablarse de verdaderos territorios celulares en el corazón, y admitimos como más verosímil una constitución sincitial en su estructura.



Glucemia é hipertiroidismo

POR

G. MARAÑÓN Y A. ROSIQUE

El método micrométrico de Bang ha facilitado de tal suerte la investigación de la glucemia, que su difusión tendrá, seguramente, una influencia transcendental en el conocimiento de los estados glucosúricos. La pequeña cantidad de sangre precisa para la determinación, permite hacer en un mismo animal, por pequeño que sea, muchas experiencias seguidas, siguiéndose así, paso á paso, procesos que antes no se podían estudiar sino parcialmente por requerirse cantidades muy considerables de sangre para la dosificación del azúcar (1).

Las experiencias realizadas por nosotros se refieren á la influencia de la secreción tiroidea sobre la glucemia, punto muy interesante, pues, como es sabido, se supone en la actualidad que, por lo menos en un cierto número de diabetes humanas, interviene un hipertiroidismo, más ó menos acentuado, en la producción del trastorno del metabolismo, causa de la diabetes (2). He aquí, sucintamente, nuestros resultados.

TÉCNICA.—Ya hemos dicho que hemos empleado la de Bang, original; ninguna modificación se nos ha ocurrido, en nuestra práctica, que mejore este preciso y manejable método.

GLUCEMIA NORMAL.—El animal elegido para nuestras experiencias ha sido el conejo. En este animal hemos obtenido como cifras normales las comprendidas entre 0'07 y 0'11 por 100; *cifra media, 0'09 por 100;* estas cifras son un poco más bajas, aunque muy aproximadas, á las de Bang,

(1) Véase descripción de la técnica en *Bang*, Der Blutzucker. Wiesbaden, 1913. *Megías* ha publicado una interesante modificación al método original en *Los Progresos de la Clínica*, 1916.

(2) Véase á este respecto la 2.ª edición de nuestro libro «Las glándulas de secreción interna y las enfermedades de la nutrición». Madrid, 1916, y la reciente obra de *Bartolotti*, «Tiroide e diabete mellito». Treviso, 1915.

para el que la glucemia normal, en el conejo, oscila entre 0'08 y 0'13 por 100 y como cifra media 0'10 por 100.

Nada tienen de extraño estas variaciones, ya que la glucemia, en condiciones normales, está sujeta á múltiples influencias que la alteran en un sentido ó en otro. Probablemente, explicarán la diferencia entre los datos de Bang y los nuestros, en primer lugar la alimentación, más escasa en hidratos de carbono, que se da á estos animales en nuestros Laboratorios (hojas de col, yerba de los jardines), con relación á la de los Laboratorios alemanes, y, sobre todo, la diferente temperatura ambiente.

Es sabido, en efecto, que diversos autores (Lüthje, Minkowski, Allard, Mohr, Falta) han estudiado la influencia de la temperatura ambiente sobre la glucosuria producida por la extirpación del páncreas. Para Pí y Suñer y Turró (1), en general, las temperaturas altas (verano) disminuyen la facilidad para la producción de esta diabetes experimental pancreática. Nosotros (l. c.) hemos observado que también la glucosuria adrenalínica se produce con más facilidad en invierno que en verano. Claudio Bernard (2) había ya llamado la atención sobre el hecho de que la cantidad de glucógeno del hígado es mayor en invierno que en verano. Y, por último, refiriéndonos á la glucemia misma, los trabajos de Böhnm y Hoffmann (3), Lepine (4), Embden, Lüthje y Liefmann (5) demuestran que es mayor en las temperaturas frías que en las cálidas. Hay, pues, á medida que la temperatura es más alta, una mayor dificultad para la movilización hidrocarbonada, menos glucógeno hepático, menos glucemia, más difícil glucosuria (6), no extrañándonos, por lo tanto, que las cifras de glucemia sean más bajas en nuestros conejos de Madrid, que viven en un ambiente de 10° á 20°, que en los de Bang, mantenidos en las cuevas del Laboratorio de Lund (Suecia) á una temperatura de 4° á 5°. El mismo Bang, en uno de estos conejos, cuya glucemia era de 0'13 por 100, observó que en días de calor (aproximadamente 20°) esta glucemia bajaba á 0'09 por 100, es decir, precisamente á nuestras cifras.

La influencia de la alimentación se vió muy palpable también en nuestras experiencias, pues animales que comiendo hojas de col tenían 0'07 á 0'09 por 100 de azúcar en la sangre, algunas semanas después, alimen-

(1) *Pí y Suñer* et *Turró:* C. R. de la Soc. de Biol., vol. LXVI, 1909.
(2) *Cl. Bernard:* Leçons de Physiologie experiment., 1855.
(3) *Böhnm und Hoffmann: Arch. f. exp. Path. und Pharm.*, 1878.
(4) *Lepine:* La diabete sucré, 1910.
(5) *Embden*, *Lüthje* und *Liefmann: Arch. f. exp. Physiol. und Pathol.* Bd. X, 1907.
(6) Es curioso el hecho de que en los animales de sangre fría ocurre lo contrario, es decir, que aumenta la glucemia por la acción del calor y disminuye por el frío (*Lœwit*, *Pflüger*, etc.; véase *Bang*, loc. cit.).

tados con yerbas de los jardines, más rica en hidratos de carbono, alcanzaban las cifras de 0'10 á 0'11 por 100.

HIPERTIROIDIZACIÓN EXPERIMENTAL.—Los animales han sido hipertiroidizados mediante inyecciones, repetidas á diario ó con diversos intervalos, de extracto glicerinado de tiroides frescos, obtenidos por extirpación en enfermos portadores de bocio. De los cinco conejos que constituyen esta serie, dos fueron tratados con extracto de un bocio extirpado á una muchacha joven, afecta del mal de Basedow típico, con exoftalmo enorme y sin desnutrición; un conejo fué tratado con bocio de un hombre portador de un bocio simple antiguo, tratado inmoderadamente por el yodo, y, en consecuencia, ligeramente hipertiroidizado (Jodbasedow). Otros dos eran testigos y no se inyectaron.

La preparación del extracto se reduce á dividir finamente el bocio en un peso igual de glicerina, dejar macerar durante cuarenta y ocho horas, filtrar, conservar el filtrado en frascos asépticos, añadiendo un poco de cloroformo. Las inyecciones (de 1, 2 y hasta 3 cent. cúb. de este extracto glicerinado concentrado) las hacemos subcutáneamente, previa dilución del extracto que va á emplearse en dos veces su volumen de suero fisiológico.

Uno de los dos conejos inyectados con el extracto de Basedow y uno de los dos testigos habían sido castrados dos meses antes, con el fin que luego diremos.

Tratados según esta técnica, los conejos presentan pronto el síndrome del hipertiroidismo: adelgazamiento, taquicardia, eretismo cardíaco, aumento de la temperatura, impresionabilidad exagerada y, á la larga, caída del pelo. Algunos animales presentan también exoftalmos más ó menos acentuado, recién practicada la inyección, y, en ciertos casos, de tipo permanente (1).

La pérdida de peso no fué excesiva en estos experimentos, sin duda porque los extractos de tiroides procedían de enfermos sin adelgazamiento. Tampoco en estos casos hemos visto que la pérdida de peso fuera mayor en los animales castrados que en los enteros, en contra de lo que habíamos observado otras veces.

RESULTADOS.—En los animales así preparados se procedía á la determinación de la glucemia. Se les inyectaba luego 1 miligramo de adrenalina (subcutáneamente) y se volvía á determinar la glucemia, á la hora y á las tres horas de la inyección.

He aquí los resultados obtenidos:

(1) Véase nuestra comunicación al Congreso de Valladolid para el Progreso de las Ciencias en 1915, «Observaciones sobre el exoftalmos experimental».

Primera serie.

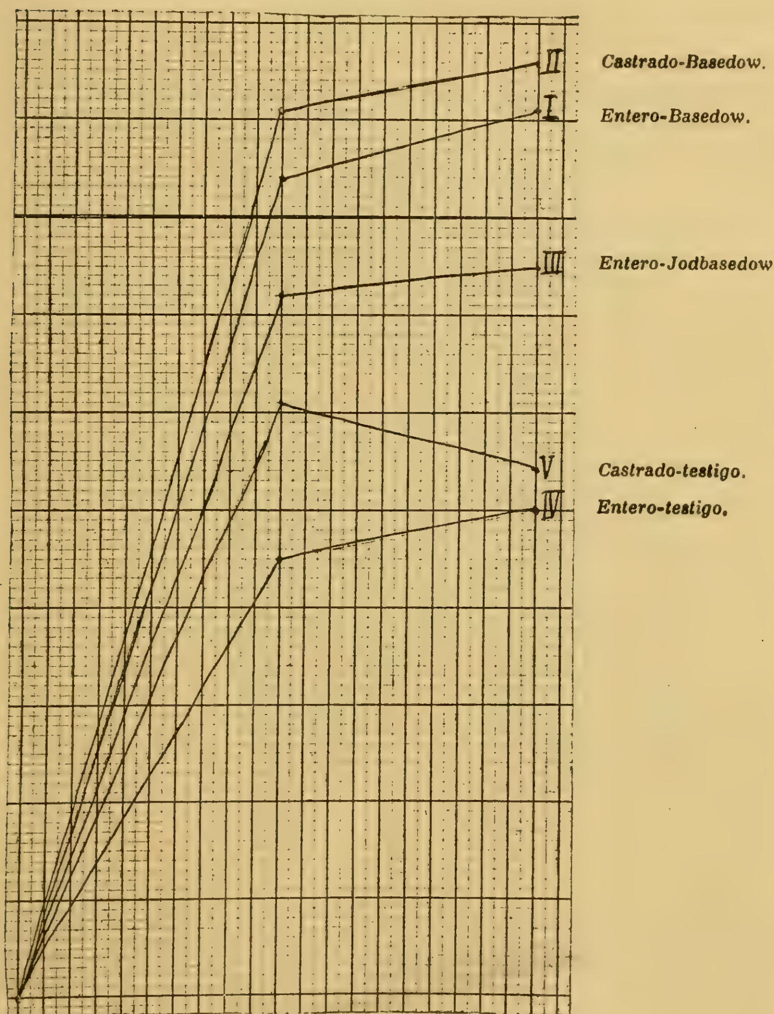
	Glucemia antes de la inyección de 1 miligramo de adrenalina.	Glucemia á la hora de la inyección.	Glucemia tres horas después.	Orina de las doce horas después de la inyección.
I. Conejo entero, inyectado con bocio de Basedow	0'085	0'176	0'181	Indicios de glucosa.
II. Conejo castrado, inyectado con bocio de Basedow (como el I)	0'096	0'180	0'187	Fehling positivo, mucho más intenso que el I.
III. Conejo entero, inyectado con bocio simple (Jodbasedow)	0'084	0'159	0'160	Fehling fuertemente positivo.
IV. Conejo entero, testigo	0'079	0'124	0'129	Indicios de glucosa.
V. Conejo castrado, testigo	0'090	0'151	0'144	Mucha glucosa.

Segunda serie.

	Glucemia antes de la inyección de 1 miligramo de adrenalina.	Glucemia á la hora de la inyección.	Glucemia tres horas después.	Orina de las doce horas después de la inyección.
I. Conejo entero, inyectado con bocio de Basedow	0'096	0'130	0'153	0'3 gramos por 1.000 de glucosa.
II. Conejo castrado, inyectado con bocio de Basedow	0'091	0'128	0'159	1 gramo por 1.000 de glucosa.
III. Conejo entero, inyectado con bocio simple (Jodbasedow)	0'084	0'159	0'160	0'3 gramos por 1.000 de glucosa.
IV. Conejo entero, testigo	0'103	0'152	0'156	0'5 gramos por 1.000 de glucosa.
V. Conejo castrado, testigo	0'116	0'160	0'150	0'7 gramos por 1.000 de glucosa.

En las gráficas adjuntas aparece con claridad la marcha de la glucemia. Están trazadas considerando como uniforme en todos los casos la glucemia antes de la inyección, para mejor comparación de unas con

Primera serie.

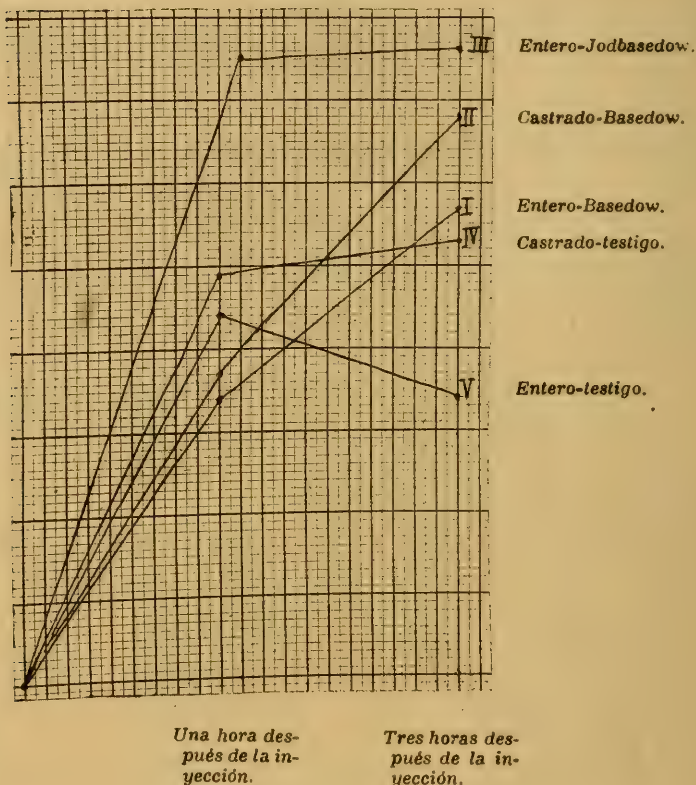


otras. Cada división pequeña de la cuadrícula equivale á 1 miligramo de glucosa.

Las consecuencias que se deducen del examen de los cuadros y gráficas anteriores, se pueden resumir en las siguientes conclusiones:

1.ª *En los conejos hipertiroidizados la glucemia no es, en general, mayor que en los testigos.* — Esto coincide con las experiencias nuestras en que anteriormente hemos demostrado la imposibilidad de producir glucosuria en el conejo por la hipertiroidización experimental, por grandes y continuadas que sean las dosis de tiroidina ingeridas ó inyectadas al

Segunda serie.



animal (1). En el hipertiroidismo espontáneo (enfermedad de Basedow) si se ha observado glucosuria, acompañada ó no de otros síntomas diabéticos, en un 3 por 100 de los casos (Gastaud, Sattler, nosotros), tratándose, sin duda, de sujetos en los que otras glándulas van reaccionando y facilitan la disposición diabética del organismo; singularmente debe tratarse de insuficiencias pancreáticas concomitantes. En algunos en-

(1) *Marañón: Bol. de la Soc. Esp. de Biol.*, Abril de 1914.

fermos de Basedow hemos investigado la glùcemia, que tampoco nos ha dado cifras superiores á las normales (1).

En hombres tratados por la tiroidina, con fines terapéuticos (adelgazamiento), una porción de autores han observado glucosuria (Beclere, Notthaft, Müller, Osler, Friedheim, etc.). Hirsch (2) dice que en estos casos de glucosuria tiroidea *hay hiperglucemia;* este dato es el único que encontramos en la literatura sobre la glucemia en los estados tiroideos. Nosotros tampoco podemos sumar nuestro modo de pensar al de los autores, en este punto concreto, pues en cerca de 500 enfermos tratados por la tiroidina, *jamás hemos visto glucosuria*, ni aun en algunos previamente hipertiroideos que, por equivocación ó por consejo poco correcto de otros médicos, habían ingerido preparados de tiroides, produciéndoseles una forma grave de intoxicación tiroidea. De todos modos, en los casos humanos de glucosuria tiroidea y de hiperglucemia tiroidea (Hirsch) no puede descartarse la posibilidad de que el sujeto estuviese predispuesto (como hemos dicho de las glucosurias en los basedowianos) por una insuficiencia pancreática concomitante, y, en efecto, Falta, Newburg y Nobel (3) declaran que sólo en los sujetos diabéticos es capaz la tiroidina de producir glucosuria.

2.ª La inyección de adrenalina determina en el conejo una hiperglucemia rápidamente ascendente en la primera hora y creciente con más lentitud en las horas siguientes, alcanzando su máximum hacia las tres horas. Ahora bien, *esta hiperglucemia post-adrenalínica es más elevada en los animales hipertiroidizados que en los testigos*. En las gráficas 1 y 2 se ve de modo muy claro esta diferencia.

Este dato, que nos importa dejar bien establecido, coincide con la afirmación de Bettmann, Strauss, Mawin (4), de que en los animales hipertiroidizados es más fácil que en los testigos la producción de la glucosuria alimenticia; y, sobre todo, con los trabajos de Falta y sus colaboradores (5), de que en esos animales tratados previamente por la tiroidina, la glucosuria adrenalínica es más fácil de determinar que en los animales testigos. Nuestras experiencias para determinar los efectos glucosúricos de la adrenalina comparativamente en hombres testigos y tratados previamente por la tiroidina, y el comportamiento de la hiperglucemia adre-

(1) Estos datos serán, más adelante, objeto de otra comunicación.

(2) *Hirsch:* Handbuch de Biochemie, de *Oppenheimer*. Bd. III. Tesl. I.

(3) *Falta*, *Newburg* y *Nobel: Zeits. f. k. Med.* Bd., LXXII, 1911.

(4) *Bettmann: Berl. k. Woch.*, 1897.—*Strauss: Deutch. m. Woch.*, 1897.—*Mawin: Berl. k. Woch.*, 1897.

(5) *Falta*, *Newburg*, *Nobel:* Loc. cit.—Véase también *Falta:* Die Erkrankrugen der Blutdrusen. Wien., 1913.

nalínica en basedowianos, no nos permiten aún adelantar ninguna conclusión en este aspecto del problema.

La demostración del efecto favorecedor de la tiroidina respecto á la glucosuria adrenalínica se refuerza comparando los cuadros 1 y 2, y paralelamente las gráficas 1 y 2. En el 1 estaban hechas las determinaciones en pleno tratamiento hipertiroideo; en el 2 se hicieron después de suspendidas diez días las inyecciones hipertiroideas; *el hipertiroidismo de los conejos era, pues, menor y también fué menor la hiperglucemia adrenalínica* (1).

3.ª *La clase de extracto inyectado no parece influir en la sensibilidad del animal inyectado para la glucosuria adrenalínica;* y así, mientras en la gráfica 1 se ve mayor hiperglucemia, en el animal III (inyectado con extracto de bocio simple) en la gráfica 2 las cifras más altas las dan los conejos I y II (inyectados con extracto de bocio de Basedow). Sería interesante investigar estos mismos hechos en conejos inyectados con extracto de bocio de un enfermo hipertiroideo y glucosúrico.

4.ª *La hiperglucemia adrenalínica va seguida de glucosuria*, en general, aproximadamente igual en intensidad y duración en los animales hipertiroidizados que en los testigos; sin que podamos dar mucha precisión á estas cifras, porque en algunos animales se perdía (por evaporación, mezcla con los excrementos, etc.), parte de la orina. Por la misma causa no hacemos hincapié en las diferencias observadas en la cantidad de orina.

5.ª La influencia que ejerce la castración en el metabolismo hidrocarbonado, sobre la que nosotros hemos insistido varias veces, se ha visto confirmada en estas experiencias. En cada pareja de animales (hipertiroidizados y testigos) se ve, en efecto, *que la glucemia es mayor en el castrado que en el entero* (véase gráficas); *esta misma diferencia se observa en la glucosuria* (véase cuadros). Coinciden estos resultados con otros semejantes publicados anteriormente por nosotros (loc. cit.) y con los de Cristofoletti (2), que también vió que en los animales castrados la glucosuria adrenalínica era más intensa que en los no castrados.

En resumen: *la hiperadrenalinemia experimental determina hiperglucemia y glucosuria. El hipertiroidismo no es capaz por sí solo de producir estos efectos; pero prepara al organismo en un sentido diabético, haciéndose más sensible para la acción de la adrenalina. La castración, por último, que tampoco es capaz por sí sola de movilizar los hidratos de car-*

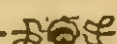
(1) En los conejos testigos esta diferencia es menor, aunque también existe, sin duda, por efecto de la temperatura ambiente, más elevada durante la realización de las segundas experiencias.

(2) *Cristofoletti: Gynäkol. Rundsch.*, 1911.

bono hasta la fase glucosúrica, coadyuva también á la acción glucosurió-gena de la adrenalina.

En el organismo humano no es posible negar la posibilidad de que estos diversos factores intervengan en la producción de las glucosurias y diabetes espontáneas, siendo probablemente de gran importancia terapéutica su diagnóstico preciso.

(Trabajo realizado en el Instituto de Medicina Legal de Madrid, Dr. Maestre).



El centrosoma de las células nerviosas

POR

P. DEL RÍO HORTEGA

La ausencia de centrosoma en las células nerviosas del hombre y vertebrados superiores, ha llamado siempre la atención de los histólogos, y algunos de ellos se basaron en esta importante particularidad para negar al centrosoma la calidad de órgano especial de la célula, con los caracteres esenciales de constancia y permanencia, es decir, existente en toda clase de células y durante toda la vida celular.

Hoy por hoy, puede decirse que solamente en la célula nerviosa, estaba por demostrar de modo indudable la existencia de tal organito, y esto no dando por buenas, como lo hacen ciertos autores, las investigaciones de otros que lograron señalar la existencia del corpúsculo polar de Van Beneden, en elementos simpáticos y ganglionares de seres inferiores.

Poco á poco, en efecto, los investigadores que siguieron las huellas de Boveri, Flemming, Van Beneden, Meves y Heidenhain, han ido descubriendo en toda clase de células, así ectodérmicas como mesodérmicas, el cuerpecito que primeramente se creyera propio y exclusivo del óvulo en segmentación. Los trabajos de Hermann, Nicolas, Prenant, Brauer, Zimmermann, Bruyne, Cohn, Ballowitz, Benda y otros muchos, nos dicen que tan sólo, y por excepción, falta el centrosoma en las células nerviosas de los animales totalmente desarrollados.

Por lo que al hombre respecta, pocas veces se logran buenas demostraciones del centrosoma en general, y ninguna mención se hace de la

posibilidad de su existencia en las células nerviosas. Antes por el contrario, dado el reposo genético en que yacen tales elementos; admitida la imposibilidad de que proliferen y supuesto que el centrosoma goza de propiedades especiales y específicas en la iniciación del movimiento mitósico, se creyó como cosa cierta é indudable en la ausencia constante y permanente de centriolos en las células nerviosas.

Sin embargo, en los animales inferiores ha sido repetidamente encontrado el centrosoma de los corpúsculos nerviosos; pero la contradicción en que incurrieron los diferentes autores al exponer los caracteres del pretendido cuerpo central descubierto por cada uno, dió lugar á no pocas dudas entre los histólogos respecto á su existencia real.

Lenhossék primeramente y Dehler después, lo encontraron en los elementos ganglionares espinales y simpáticos de la rana.

Posteriormente fué descubierto por Margaret Lewis en las células nerviosas de los anélidos; por Mac Clure, en las del Helix; por Buehler, en las del sapo; Hamaker lo encontró en el Nereis; Holmgren y Studnicka, en el Lophius; Rand, en el Lumbricus; Fuchs y Nestor Van der Stricht, en los saurios; Cohn, en las células ganglionares espinales y simpáticas del pollo de seis días y en las retinianas del ratón blanco; Sjövall, en las espinales del embrión de pollo de pocos días.

En el hombre ha sido estudiado tan sólo el centrosoma de las células neuróglicas, primeramente por Benda y después por Achúcarro, Cajal y nosotros mismos.

El resultado negativo logrado por los investigadores en sus estudios acerca del centrosoma de las células nerviosas encefálicas y ganglionares, estriba, en nuestro sentir, en la complicación estructural de su protoplasma y en la carencia de métodos específicos para la tinción del diminutísimo corpúsculo central. El método de Heidenhain, que es de todos los usados el que más brillantes resultados proporciona, no nos permite distinguir, en el espeso, grumoso y á veces granugiento protoplasma neuronal, cuerpecito alguno que pudiéramos considerar como centrosoma.

El método de Achúcarro, que eventualmente nos ha proporcionado muy bellas coloraciones del centrosoma de las células nerviosas, fracasa á menudo, á causa de las mil circunstancias que hacen variar sus resultados, siempre interesantes. Las mejores preparaciones se logran con cortes finos, algo más teñidos que de ordinario por la plata amoniacal, lavados abundantemente y reducidos en formol muy amoniacal. Prescindiendo de este baño formólico y virando los cortes (previo lavado) en una solución débil de cloruro de oro amarillo, no es infrecuente la tinción del centrosoma de los corpúsculos nerviosos y neuróglicos, si bien

algo más pálidamente que con la técnica habitual del método tano-argéntico, que, por lo demás, es menos constante (1).

Hasta ahora (fecha de la presentación de esta nota), hemos observado la existencia de centrosoma, en las células que constituyen el plexo de Auerbach del intestino y en las del asta de Ammon y corteza cerebral del hombre adulto, normal y coréico.

En las células simpáticas del plexo de Auerbach (fig. 1) el centrosoma adopta la forma de bastoncitos, más ó menos largos, situados á variable distancia del núcleo, en un espacio claro del protoplasma, que es un indicio de la esfera atractiva.

Estos bastoncitos son de constancia poco dudosa, puesto que si en algunas células no se dejan ver, tal cosa depende muy verosímilmente de la coloración más intensa del protoplasma ó de su situación en un plano subyacente al núcleo.

El emplazamiento del centrosoma es variable en las células simpáticas y tan pronto se le distingue próximo al núcleo, casi tocándole vertical ó paralelamente á su superficie, como se le ve en un extremo de la célula, cerca del borde libre.

Entre esta situación distal y proximal con respecto al núcleo, existen todas las transiciones posibles, sin guardar relación alguna con el estado vacuolar ó macizo del protoplasma.

Conforme hemos ya manifestado, cada centriolo posee la forma de un bastoncito (figs. 1 y 2), muy semejante á un bacilo de extremos redondeados. Su longitud oscila entre 2 y 8 micras, y aunque por lo general es rectilíneo, á veces se incurva ligeramente sobre el núcleo.

El número de bastoncitos ó centriolos alargados que posee cada célula es lo más frecuentemente de dos, que se disponen paralelamente entre sí ó forman una +, un ×, una ∟, una V, etc.; mas en algunas células solamente existe un bastoncito y en otras, por el contrario, se cuentan hasta tres ó cuatro, excediendo de este número en muy contados casos. Cuando son múltiples suelen agruparse en forma de estrella alrededor de un centro claro.

(1) En investigaciones posteriores á la presentación de esta nota preventiva hemos comprobado que, manteniendo los cortes en el baño áurico durante quince á veinte minutos en la estufa á 55°, la coloración del centrosoma de las células nerviosas y de muchas otras células es constante y extraordinariamente intensa y selectiva. Con este método hemos logrado demostrar recientemente el centrosoma normal de las células nerviosas y descubrir algunas de sus interesantes modificaciones patológicas. Remitimos al lector á nuestro trabajo «Nuevos estudios sobre el centrosoma de las células nerviosas de los vertebrados, en sus formas normal y anormales». *Trabajos del Laboratorio de Investigaciones biológicas*, fascículo II, 1916.

En las grandes células piramidales (fig. 4) y polimorfas del asta de Ammon y corteza cerebral, no se encuentra el centrosoma con tanta constancia como en los corpúsculos simpáticos. Campos hay, donde todos los elementos poseen aquel organito; pero en otros, carecen de él bastantes células.

En las del asta de Ammon (fig. 3) forma el centrosoma un bastoncito de 5 á 6 micras de longitud, generalmente solitario, pero á veces en relación con un cuerpecito redondeado, muy próximo á uno de sus extremos, generalmente el periférico.

Estos microsomas ocupan lugares diferentes de la célula, pero ofrecen una marcada tendencia á situarse en la periferia, inmediatamente por debajo de la membrana celular, cuya situación es casi constante cuando el centrosoma se halla formado de un centriolo alargado y otro redondo (.—); lo contrario acontece cuando existe tan sólo un bastoncito solitario (—), el cual se aproxima más ó menos al núcleo, tocándole á veces por uno de sus cabos, ó bien ocupa la raíz de la prolongación principal de la célula, como se observa, sobre todo, en las grandes piramidales.

El centrosoma de las células que estudiamos no se halla incluído en una esfera atractiva, coloreada y correctamente dibujada; mas, por lo general, aparece envuelto por un halo claro de variable extensión.

Los caracteres que nosotros encontramos en el microcentro de las células nerviosas humanas no coinciden exactamente con las que dan los diversos autores, cuyas descripciones, por lo demás, tampoco van de acuerdo. Unos le encuentran constituído por una esfera asteriforme con centrosomas; otros, por una esfera desprovista de centrosomas; y otros, finalmente, por un centrosoma desnudo sin esfera atractiva. Ante tal divergencia, muchos autores dudan fundadamente de que dichas formaciones sean verdaderos centrosomas. No puede existir, en efecto, mayor diferencia entre los centrosomas descritos por Lenhossék, Buehler, Lewis, Sjövall y Van der Stricht.

El centrosoma descrito por Lenhossék ocupa el centro del protoplasma y consta de uno ó varios granitos envueltos por una esfera pálida (Centrosphäre), á su vez rodeada de granulaciones abundantes (Plasmosphäre).

Buehler observa un centrosoma yacente cerca del núcleo y formado de dos centriolos, de los que irradian tenues filamentos.

Margaret Lewis distingue un centrosoma situado en pleno protoplasma, dentro de una esfera con radiaciones.

Para Sjövall existe uno ó dos corpúsculos próximos al núcleo y no se discierne esfera. Van der Stricht, por el contrario, halla solamente una esfera vacía de centrosomas.

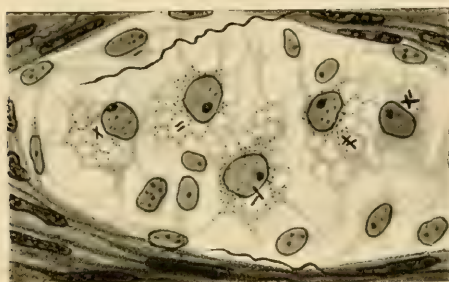


Fig. 1.— Pequeño ganglio del plexo simpático intestinal de Auerbach (método de Achúcarro, dorado).

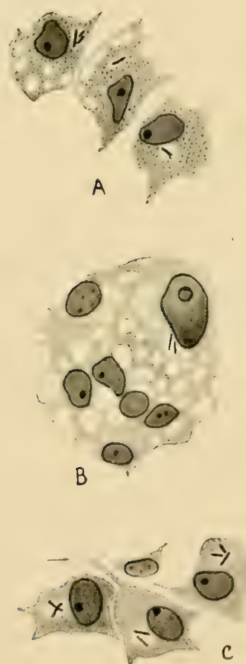


Fig. 2.— Células simpáticas del plexo intestinal de Auerbach.— A, células con mitocondrias; B, célula invadida por elementos mesodérmicos; C, células de protoplasma homogéneo y obscuro; en todas ellas existen centrosomas baciloides.



Fig. 3.— Células polimorfas del asta de Ammon en un caso de corea; distínguese en ellas un bastoncito solitario ó acompañado por un pequeño grano periférico.

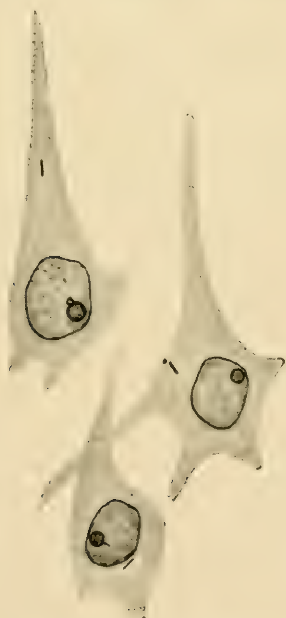


Fig. 4.— Células del asta de Ammon, de un viejo, con sus centrosomas.



No ofrece dudas de ninguna especie que las formaciones que hemos observado en el cerebro humano son centrosomas. Lo que precisa ponerse en claro es, si se trata de cuerpos inertes desde el punto de vista de la multiplicación celular, esto es, incapaces para la promoción del movimiento mitósico; ó si, por el contrario, poseen todavía plena vitalidad y conservan íntegramente las propiedades que se les atribuyen.

Para nosotros, no obstante, el asunto está bien claro. Teniendo en cuenta nuestras observaciones sobre los centrosomas ependimarios y neuróglicos y los de las células epifisarias del hombre, mamíferos y aves, no dudamos en admitir que el centrosoma de las células nerviosas del hombre adulto estudiadas por nosotros se halla en estado regresivo, análogo al que presenta en las células pineales. En éstas, los centrosomas (blefaroplastos primitivos) se alargan considerablemente y adoptan formas monstruosas (1).

En las células nerviosas el alargamiento es menor que en las epifisarias; pero llega á hacerse diez veces mayor que el tamaño que debè presentar cada centriolo en los neuroblastos y células nerviosas jóvenes.

El hallazgo del centrosoma de las células nerviosas del hombre adulto ofrece algún interés teórico y se presta á ciertas reflexiones. Desde el punto de vista de la teoría del centrosoma, que considera á este órgano como parte integrante de la célula normal, viene á apoyarla, en contra de los autores que hallaron en la ausencia de centrosoma en las células nerviosas el más serio argumento para negarle su valor.

Por lo que hace á la célula nerviosa, se dice que es incapaz de multiplicarse una vez terminado su desarrollo, y se añade que tal falta de actividad proliferativa es imputable á la carencia de centrosoma, que para muchos sabios es el órgano promotor de la división celular. Pero, comprobada la existencia de centrosoma en las células nerviosas de animales adultos, es preciso atribuir á otras causas la falta de mitosis.

Podría admitirse inversamente, supuesto que la célula nerviosa posee centrosoma, que es capaz de proliferar; pero tal idea está en contradicción con lo que nos dicen la experimentación y el análisis de casos patológicos. Así, pues, se precisa llegar á una de estas dos conclusiones: el centrosoma no ejerce el papel carioquinético que se le atribuye ó el centrosoma de las células nerviosas ha perdido la facultad mitoquinética.

En algunas células nos ha parecido sorprender un diplosoma próximo á la superficie; pero no le hemos visto tan netamente que podamos afirmar su existencia de un modo categórico; sin embargo, abrigamos la

(1) Véase *Del Río Hortega:* «Sobre la naturaleza de las células epifisarias». Boletín de la Sociedad Española de Biología. Enero, 1916.

sospecha de que en las células nerviosas jóvenes debe existir un diplosoma como el que existe en otros elementos que derivan del canal neural (neuroglia) y como el observado por Sjövall en el embrión de pollo.

Ahora bien, ¿cómo nos explicamos que, existiendo en la célula joven dos centriolos diminutos y esféricos, se encuentre en la célula adulta un solo centriolo muy alargado ó uno de éstos acompañado de otro redondo? ¿Cómo interpretar la reducción numérica, la variación morfológica y el desplazamiento de los centriolos? Suponiendo que cuando el centrosoma ha cumplido su misión experimenta fenómenos regresivos, durante los cuales aumenta de volumen, por conservar integra ó exagerada la función asimilativa de productos celulares.

Pero cabe suponer que en tal cual célula conserve el centrosoma sus propiedades específicas en mayor ó menor grado y que en un momento dado podría desenvolver su acción. Así nos explicaríamos la existencia de divisiones frustradas de las células nerviosas, de las que son indicio la existencia de un doble núcleo, que, aunque rara vez, se encuentra en algunas células del hombre y vertebrados.

En conclusión podemos decir: 1.°, en las células nerviosas del hombre adulto existe un centrosoma; 2.°, este centrosoma se halla en estado regresivo.



Observaciones á las palabras del Dr. Mayoral comentando la comunicación del Dr. Coca «Modificaciones que sufren las células epiteliales del cuello del útero humano cultivadas *in vitro*» (Diciembre 1915)

POR

F. COCA



Véome obligado, bien á pesar mío, á ocupar algún tiempo de la sesión de hoy para aclarar algunos conceptos de la rectificación hecha por el Dr. Mayoral á mi comunicación del 17 de Diciembre, publicada en el núm. 32 del Boletín de esta Academia.

En la citada rectificación hace el Dr. Mayoral la siguiente afirmación, que copio literalmente: «Todo cuanto en dicha Memoria se decía (se refiere á la mía, titulada «Etiología del cáncer», que fué premiada en el Concurso de la Academia Medico-Quirúrgica el año pasado) había ya sido expuesto por el Dr. Christian Champy en la *Presse Medicale*, en el número de 31 de Enero de 1914, y en los *Archives de Zoologie experimentale*, año 1914».

Esta afirmación escrita, que no corresponde exactamente á las palabras en aque-

lla sesión pronunciadas por el Dr. Mayoral, no se ajusta á la verdad, como seguramente saben los señores que conocen la literatura que el mismo Dr. Mayoral ha citado.

En los dichos notables trabajos del Dr. Champy se dan á conocer los fenómenos de la desdiferenciación de la célula fisiológica, cultivada en plasma del mismo animal ó de animal de la misma especie, y el honor de tan interesantes descubrimientos le corresponde sólo á él.

Posteriormente á las dichas publicaciones, y trabajando yo á su lado, acometimos el estudio del cultivo de células, en plasma de animales de diferente especie; el cultivo de células humanas, en plasma de conejo; el cultivo de células de cáncer de ratón, en plasma de conejo y reinoculación subsiguiente; el cultivo de células en medio líquido, con corriente de aire, etc., y las noticias que de estos trabajos han aparecido constan en dos comunicaciones presentadas á la Société de Biologie, de París, en las sesiones del 20 de Junio y del 27 del mismo mes y año 1914, y que llevan los nombres del Dr. Champy y mío, y en la citada Memoria mía, de la que fué ponente el Dr. Mayoral.

La Memoria mía, «Etiología del cáncer», constituye un resumen de los trabajos del Dr. Champy y de los por mí realizados con él, y las conclusiones deducidas de todas estas investigaciones son ideas puramente personales.

No es, por tanto, mi Memoria una mera variante de las publicaciones del doctor Champy en la *Presse Medicale* y *Archives de Zoologie*, como el Dr. Mayoral afirma.

DISCUSIÓN

El Dr. P. Mayoral: Dice el Dr. Coca: «La Memoria mía *Etiología del cáncer*, constituye un resumen de los trabajos del Dr. Champy y de los por mí realizados con él, y las conclusiones deducidas de todas estas investigaciones son ideas puramente personales».

Resulta, pues, que, sin mencionar al Dr. Champy, tanto en la Memoria presentada á la Academia Medico-Quirúrgica como en la comunicación á esta Sociedad el 17 de Diciembre, *se resumen trabajos del Dr. Champy*, y precisamente ellos son el eje, la parte fundamental del folleto del Dr. Coca.

En cuanto al cultivo de células en plasma de animales de diferente especie, que es en lo que el Dr. Coca ha intervenido en unión del Dr. Champy, paréceme que no está suficientemente demostrado que las hayan *cultivado*, es decir, obtenido la multiplicación y crecimiento de los fragmentos; sobre este punto sería interesante oir la opinión del Dr. Tello, que también ha tenido ocasión de examinar los trabajos del Dr. Coca, pues yo carezco de autoridad suficiente en estas materias.

Respecto á las conclusiones de la citada Memoria, debemos decir que ya habían sido expuestas de modo muy semejante por autores nacionales y extranjeros, como puede verse en los siguientes párrafos de un trabajo publicado por nosotros en Marzo de 1914 en la Revista *Policlínica*: «Resumiendo en pocas líneas el concepto transitorio que tenemos formado de la etiología y patogenia del cáncer, diremos: El cáncer no es una enfermedad microbiana; es una enfermedad primitivamente local, cuya aparición se facilita por una alteración general del individuo, que recae sobre el mecanismo regulador de la multiplicación celular de los tejidos».....

«El cultivo de los tejidos embrionarios se acompaña de una *desdiferenciación* de sus células. Los tejidos animales adultos comienzan á multiplicarse cuando se libe-



ran de la influencia del resto del organismo; los fenómenos de crecimiento y de regulación de forma de los órganos no aparecen como dependientes de causas que excitan la proliferación celular, sino las causas que la dificultan».... .

«Con amplio sentido puede decirse que cierto grado de diferenciación celular caracteriza los tumores malignos, mientras que los benignos están constituídos por elementos semejantes á los que componen los tejidos normales. En los cultivos y en los casos de cáncer, hay á la vez multiplicación anormalmente activa y *desdiferenciación* de los elementos; esto demuestra que los dos fenómenos característicos de la génesis de los tumores pueden producirse sin la intervención de un agente patógeno específico».

«Se puede suponer que un trastorno espontáneo de la armonía que constituye la regulación normal del crecimiento, junto con una irritación local, bastan para producir un tumor maligno».

El Dr. **Coca**: Aun creyendo yo, como el Dr. Tello, que es éste un asunto enojoso, no puedo conceder que se trate de discutir una prioridad que no existe.

Los trabajos que corresponden al Dr. Champy solo, que son los fundamentales, pues ha sido el primero en ver los fenómenos que ocurrían en la célula cultivada, para llegar á la desdiferenciación, están publicados con su firma; los que han sido realizados por él y por mí, en su colaboración, han sido firmados por los dos; es, pues, una cuestión perfectamente deslindada.

En todas mis publicaciones sobre estos estudios de cito-culturas he tenido la satisfacción de hacer justicia á los inmensos méritos de Champy; compruébenlo los que quieran en los trabajos publicados en *España Médica* y en mi misma Memoria cuando fué publicada.

No puedo yo, dado que la ocasión no es oportuna, discutir con el Dr. Mayoral si las células puestas en plasma viven ó no, mucho más confesando él noblemente que no está muy enterado de estos asuntos; yo afirmo que las células cancerosas cultivadas se nutren, se reproducen y mueren. Tampoco es momento adecuado para plantear discusión sobre las conclusiones de mi Memoria, sino sólo de aclarar la afirmación del Dr. Mayoral y que, repito, no se ajusta á la verdad de los hechos, como he demostrado y puede comprobar todo el que quiera, sin más que leer la literatura citada, y que yo tengo aquí á disposición de los Sres. Académicos.

Puede ser, como el Dr. Mayoral ha dicho, que sea la causa de su error la no computación de las fechas de las comunicaciones á la *Société de Biologie*; pero hago constar que éstas aparecieron con anterioridad á la entrega del original de mi Memoria en la Secretaría de la Medico - Quirúrgica, y con mucha más, claro es, á la publicación de la Memoria.

En cuanto al concepto *transitorio* que el Dr. Mayoral tiene formado de la etiología y patogenia del cáncer es, á mi juicio, un barajamiento de ideas confusas de las que yo sólo consigo desentrañar que emplea mal la palabra *desdiferenciación*, como no conociendo el fenómeno que con ella se expresa.

SESIÓN DEL 26 DE MAYO DE 1916

Sobre crecimiento y división del bacilo de Koch

POR

JULIO BLANCO

Nuestra comunicación tiene sólo por objeto señalar algunos detalles observados en la manera de comportarse las granulaciones durante el crecimiento, y sobre todo de la división del bacilo de Koch, que revelan no permanecen indiferentes, sino que toman parte activa en dichos fenómenos.

El material de que nos hemos servido para su estudio ha sido: los esputos y demás productos patológicos analizados durante el presente curso; cultivo puro, recogido en diversos momentos de su crecimiento, de caldo glicerinado; agar-medio Lubenau, patata y riñón glicerinados al 5 por 100. En uno y otro caso se encuentran formas cortas de media micra, que son los más jóvenes y abundan más en las preparaciones hechas con material tomado del borde de los cultivos en pleno desarrollo. Estas formas cortas están, en su casi totalidad, integradas por un grano central, esférico y poco refringente, rodeado de protoplasma escaso y débilmente ácido-resistente. Después de éstas pueblan el campo las formas adultas con número variable de corpúsculos y distribuídos siguiendo una cierta norma: así son centrales ó terminales cuando hay uno solo, uno central y los otros dos periféricos, etc. Junto á estas formas de grano esférico existen otras, y es sobre las que queremos llamar la atención, en las que el grano es oval ó en reloj de arena. La situación de este grano con frecuencia es periférica, pero no terminal, ó sólo lo es transitoriamente; más allá del mismo se extiende una pequeña porción de protoplasma, débilmente roja con relación al resto del bacilo, por lo que la consideramos como la porción ó cabo de crecimiento del mismo; pues bien, á medida que este protoplasma es más largo, el corpúsculo se alarga y estrangula, aparece un espacio claro en el centro y, finalmente, se verifica la partición del bacilo á este nivel, quedando así convertido

lo que antes era un solo bacilo con un grano, en dos con el suyo respectivo.

Otras veces la división del bacilo se observa tiene lugar por su centro y á nivel y previa división del corpúsculo; pero no es ésta la única forma de división, como lo prueba el hecho de verse formas adultas sin grano. ¿Son estas formas que lo han perdido en las manipulaciones? ¿Son bacilos estériles incapaces de multiplicarse, ó puede formarse espontáneamente el grano en su espesor y por un mecanismo idéntico al arriba señalado seguir dando origen á más bacilos? No podemos contestar á estas preguntas.

(Las preparaciones han sido teñidas con el método de Fontes-Weis y el nuestro).



Contribución al estudio microscópico del fascículo de His

POR

L. CALANDRE Y P. CARRASCO

Disposición general. — Como es sabido, el corazón no forma un todo homogéneo; los trabajos de Kent, His, Aschoff, Tawara y Monckeberg han puesto de manifiesto la existencia en el corazón de un sistema de fibras musculares de naturaleza especial que pone *exclusivamente* en conexión aurículas y ventrículos y al cual los estudios fisiológicos han asignado la propiedad de conducir la excitación, desde unos á otros compartimientos cardíacos; constituye lo que se denomina *sistema de conducción atrio-ventricular del corazón.* Este sistema tiene probablemente su origen en la desembocadura de las venas cavas, pero sólo como perfectamente constituído aparece en un nódulo colocado en la aurícula derecha, un poco por delante de la desembocadura del seno coronario. A este nudo lo ha descrito Tawara como formado por fibras pálidas con estriación escasa y protoplasma abundante que marchan de un modo completamente irregular en todas direcciones y forman un muy complicado plexo con un aspecto muy diferente del aspecto reticulado que ofrece el miocardio ordinario. Hacia la parte anterior del *nudo* las fibras se disponen paralelamente, formando un tronco — fascículo de His — que se dirige hacia adelante cabalgando sobre el tabique ventricular. Esta por-

ción, como el resto del sistema, está envuelta en una ganga de tejido conectivo flojo que la aisla del miocardio adyacente (fig. 1).

En su parte más anterior, el fascículo se divide en dos ramas, derecha é izquierda; la primera se dirige abajo y adelante por la pared del ventrículo derecho en dirección hacia la base del músculo papilar anterointerno; en este punto el fascículo emite prolongaciones á los otros músculos papilares y termina continuándose con la red de fibras de Purkinje. La rama izquierda, tan pronto como nace, atraviesa la *pars membranacea septi* y penetra así en el ventrículo izquierdo, marcha por debajo del endocardio abriéndose en forma de abanico y termina igualmente, distribuyéndose por ambos músculos papilares y continuándose con las fibras de Purkinje.

Estructura microscópica del fascículo de His.— Uno de los autores que con más detenimiento se han ocupado de la constitución macros y microscópica del sistema de conducción atrio ventricular, ha sido el japonés Tawara, que en 1906 publicó sobre este asunto un trabajo, que ya se ha hecho clásico. Según Tawara, el fascículo de His está constituído por células especiales, de tamaño y forma muy variables, poliédricas ó redondeadas, alargadas en la dirección del fascículo. Se alinean unas á continuación de otras, formando finos hilos y, uniéndose varios de ellos íntimamente por sus lados, forman cordoncitos más ó menos delgados; las células tienen uno ó dos núcleos y un protoplasma abundante, en el cual se contendrían las miofibrillas; éstas son escasas, diseminadas, repartidas algunas por la periferia y, sobre todo, agrupadas en las partes laterales fronterizas de las células contiguas. Estas miofibrillas seguirían la dirección longitudinal de los cordones y pasarían saltando de una célula á otra sin interrumpirse. Tawara asigna, pues, al fascículo de las fibras de Purkinje una constitución decididamente celular. A nosotros, de igual modo que á Arnold y á Heidenhain, no nos hace la impresión de que se halle formado por el agrupamiento de verdaderos elementos celulares. Vamos á intentar hacer su descripción según nuestro modo de comprenderlo. Nos hemos servido para este trabajo exclusivamente de corazones de carnero y de ternera porque en ellos la disección del fascículo es sumamente factible y la red de Purkinje es muy abundante. Como métodos hemos utilizado principalmente la hematoxilina férrica y el de tanino-plata amoniacal.

Cuando se practican cortes longitudinales, se ve al fascículo, constituído por un haz de fibras que marchan longitudinalmente, paralelas, con algunas anastomosis é individualizadas cada una por un forro de tejido conectivo abundante. Estos hilos no son rectilíneos, sino que ofrecen curvaduras y sinuosidades, y con frecuencia verdaderos pliegues trans-

versales que, á modo de hendiduras, penetran más ó menos en el espesor de la fibra (fig. 2, A). Observando con atención los detalles que ofrece la estructura de la fibra, se aprecia en su interior la existencia de miofibrillas estriadas. La dirección de éstas es preponderantemente longitudinal, pero con un curso más ó menos oblicuo y entrecruzado. Estas miofibrillas son menos abundantes aquí que en las fibras miocárdicas ordinarias; además, no concordando lateralmente unas con otras, falta el aspecto de la estriación transversal regular de la fibra muscular ordinaria. Pero además de ser escasas, no se hallan repartidas con regularidad por todo el espesor de la fibra; existen en la periferia y, sobre todo, abundan muy preferentemente hacia el eje de la fibra, hasta el punto de ofrecer el aspecto de un haz axial. Las miofibrillas que marchan por el eje del cordón, de trecho en trecho se esparcen hacia su periferia ó tornan de ésta al centro; por este mecanismo se forman como unas mallas que limitan espacios poligonales de protoplasma indiferenciado, conteniendo uno, dos, rara vez tres núcleos, rodeados de abundantes granulaciones pigmentarias y adiposas (figs. 3 y 4). Por ninguna parte encontramos límites celulares de ninguna clase. Las miofibrillas se continúan sin interrupción á lo largo de la fibra. Las interrupciones transversales que se han descrito como límites celulares no son sino cortes tangenciales de los pliegues ó depresiones de la fibra que anteriormente hemos descrito. En efecto, en las preparaciones de algún espesor se ven en ciertos enfoques líneas transversales claras, bordeadas por dos hileras de puntos que simulan soluciones de continuidad de la fibra, y á cuyo nivel el curso de las miofibrillas parece interrumpido, pero basta siempre variar el enfoque para comprobar el artificio y ver cómo se restablece la continuidad en otro plano inferior.

Los cortes transversales (fig. 5) dan una imagen que confirma y completa la idea que de su constitución nos revelan los cortes longitudinales. La sección de los cordones ofrece un contorno redondeado, poligonal ó irregular; en su interior destaca un punteado que corresponde á la sección transversal de las miofibrillas. Este punteado no está repartido uniformemente por todo el espesor del cordón; algunas se extienden por la periferia de la fibra formando una delgada hilera; la mayoría se concentran en bandas espesas que cruzan el espesor de la fibra; estas bandas más ó menos densas confluyen hacia el centro en disposición radiada y limitan campos poligonales claros, de protoplasma homogéneo; algunos ofreciendo en su centro un núcleo rodeado de granulaciones pigmentarias (fig. 5, A). Para Tawara, estos sectores en que aparece dividido cada cordón representarían los diversos elementos celulares integrantes del haz y la línea divisoria marcharía por en medio de las bandas ra-

L. Calandre y P. Carrasco.— **Contribución al estudio microscópico del fascículo de His.**

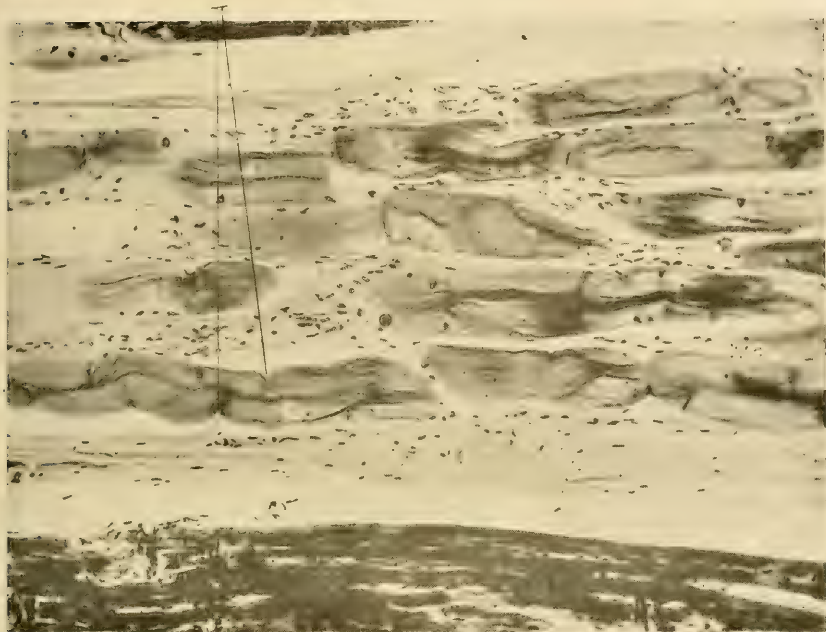


Figura 2.

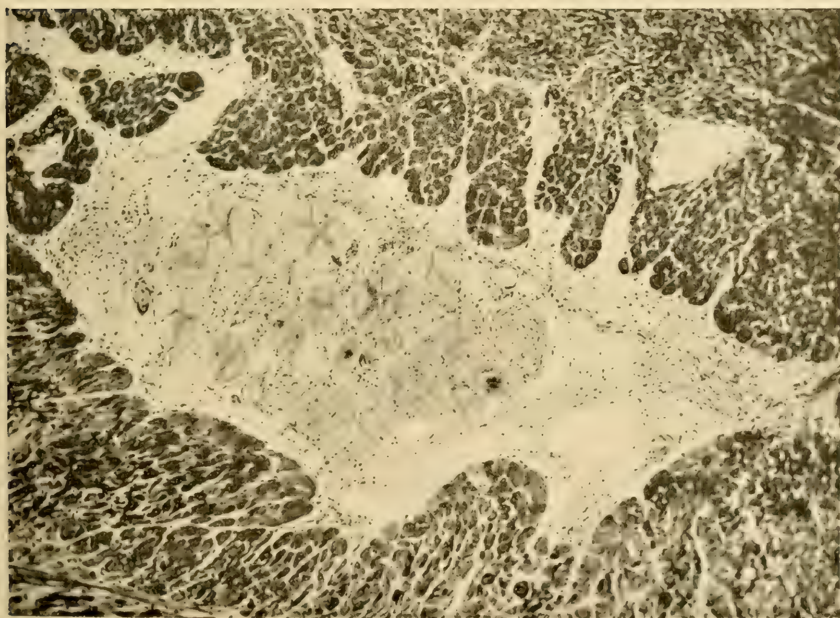


Figura 1.

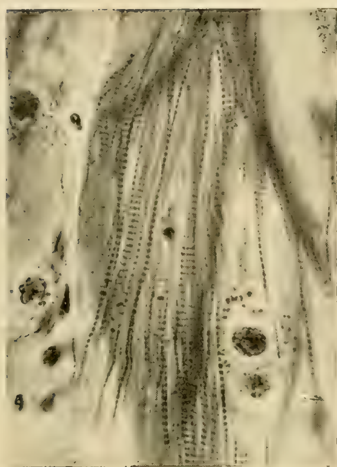


Figura 3.

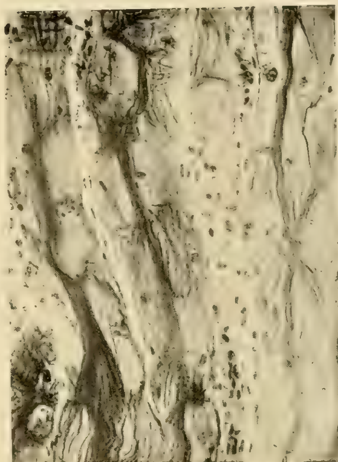


Figura 4.

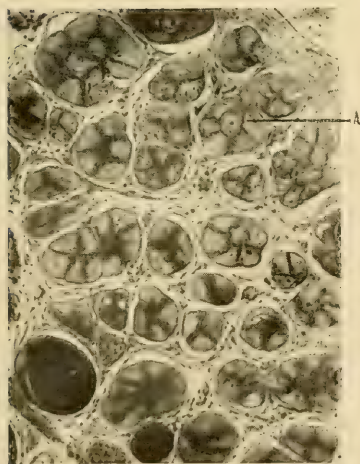


Figura 5.



Figura 6.

diadas. Nosotros no hemos encontrado nunca esas líneas divisorias.

En resumen, no nos parece que se pueda afirmar que el fascículo de His está constituído por una reunión de células, sino que, á semejanza del miocardio ordinario, está formado por un todo continuo, un *syncitium*, una masa protoplásmica única en cuyo seno hay diferenciadas miofibrillas poco abundantes que se acumulan principalmente en el eje de los cordones y según ciertos septos radiados; estas fibrillas elementales con frecuencia cambian de dirección, limitando así espacios poligonales de protoplasma indiferenciado, conteniendo los núcleos, y sin que puedan marcarse límites celulares.

Tejido conectivo. — Existe un tejido conectivo, laxo, abundante, que envuelve en general á todo el fascículo de His y aisla así completamente al sistema de conducción atrio-ventricular del resto del miocardio. Este tejido conectivo abunda en elementos celulares. Las células cebadas son sumamente numerosas, contándose á veces 15 á 20 por campo. Ofrece fibras colágenas bastante apretadas y fibras elásticas (fig. 1).

El método de Achúcarro revela, además, en torno de cada cordón una envoltura de tejido reticular análogo al que envuelve á las fibras cardíacas ordinarias, pero más denso y vigoroso (fig. 6). Nunca penetra en el interior de los cordones, lo cual también parece confirmar que cada cordón no es descomponible en células distintas.

* * *

Le faisceau de His n'est pas constitué par une reunion de cellules, mais il est formé pareillement que le miocarde ordinaire, d'un ensemble continu, un *syncitium*, une masse protoplasmique, dans lequelle il y a des miofibrilles differenciés, peu abondantes, qui s'accumulen surtout sur l'axe des cordons, et celà en suivant certains septums en forme de rayons. Ces fibrilles elementaires changen souvent de direction en délimitant ainsi des espaces poligonaux de protoplasme indiferencié qui renferment leurs noyaux et sans qu'on puisse observer des limites cellulaires.

A part le tissu connective laxe, riche en fibroblastes et en Mastzellen, qui enveloppe en général tout le faisceau de His et sépare complétament le système de conduction atrioventriculaire du reste du miocarde, la métode d'Achúcarro révéle, autour de chaque cordon, une enveloppe de tissu reticulaire analogue a cellui qui protége les fibres cardiaques ordinaires, mais plus épaisse et vigoreusse et qui ne pénétre pas à l'interieur des cordons, ce qui semble aussi confirmer cette theorie que chaque cordon ne saurait être décomposé en cellules séparés.

La producción de espuma en las orinas de los cancerosos

POR

A. MADINAVEITIA y E. CARRASCO

Entre los componentes de las orinas de los cancerosos, el ácido oxiprotéico es el que tiene más interés. Con una regularidad grande parece encontrarse este cuerpo en la orina de los enfermos de cáncer; no se encuentra, ó se encuentra en cantidades poco importantes, en los individuos normales, y sólo parece encontrarse con frecuencia en la orina de las embarazadas y en la de algunos enfermos mentales.

Se comprende con el nombre de ácidos oxiprotéicos un conjunto de cuerpos, químicamente mal definidos, que parecen derivarse de los albuminoides por oxidación (de aquí su nombre) y que tienen propiedades muy semejantes á los productos obtenidos *in vitro* por oxidación suave de los albuminoides. Son cuerpos solubles en el agua, produciendo soluciones coloides, no coagulables por la acción del calor, precipitables por el alcohol, precipitables por los óxidos metálicos debido á su carácter débilmente ácido; contienen en su molécula, lo mismo que los albuminoides, átomos de azufre, que se oxidan fácilmente, produciendo ácido sulfúrico.

Para investigar la presencia de ácido oxiprotéico en la orina y para determinar su cantidad, aunque sea de un modo aproximado, se han propuesto muchos métodos, fundados en las distintas propiedades químicas del ácido, antes enumeradas.

Precipitando el ácido, bien sea por el alcohol, bien sea por un óxido metálico, y determinando en el precipitado después de bien lavado la cantidad de nitrógeno, se obtiene el valor del nitrógeno coloide. Esta determinación da buenos resultados operando con cuidado. La determinación es sumamente engorrosa; todo el que la ha practicado algunas veces sabe lo larga y pesada que es.

Salomon y Saxl introdujeron la dosificación aproximada del azufre, fácilmente oxidable para la investigación del ácido oxiprotéico en la orina, y, por lo tanto, para el diagnóstico del cáncer. La reacción, en sus diversas modificaciones, da resultados bastante constantes. Los señores Varillas y Pascual la han ensayado aquí, aportando una estadística bastante extensa. Nosotros la hemos empleado bastante con buenos resultados. La reacción es mucho más sencilla que la determinación del nitró-

geno coloidal y se puede emplear con facilidad en el Laboratorio de la Clínica.

Tratando de buscar una mayor sencillez y una rapidez más grande en las determinaciones, hemos tratado de investigar el ácido oxiprotéico por las propiedades fisico-químicas de sus soluciones.

El ácido oxiprotéico se disuelve en el agua, dando una seudo-solución que tiene todos los caracteres de las soluciones de los albuminoides, faltándole la propiedad de coagular por la acción del calor. Sus soluciones, lo mismo que las de los albuminoides, tienen la tendencia á dar espuma.

Esta afrosidad ó tendencia á dar espuma la medimos por un método análogo al que empleó Bignon para determinar el que él llamaba índice afrosimétrico (1), método tomàdo de la hidrotimetría con soluciones de jabón.

En un frasco con buen tapón se colocan 100 cent. cúb. de agua destilada y desde una bureta se va añadiendo la orina en pequeñas porciones, agitando fuertemente después de cada adición hasta que la espuma que se forma sea persistente, es decir, que en el espacio de un minuto después de la agitación la capa de espuma no se rasgue y mantenga un espesor de varios milímetros.

El número de centímetros cúbicos gastados nos dan una medida de la afrosidad de la orina.

Para efectuar la determinación hay que asegurarse previamente de que la orina no contiene albúmina ni sales biliares, porque las dos enmascaran la reacción. Hay que tener también en cuenta la densidad de la orina, porque con una densidad elevada darán las orinas, con menor cantidad, espuma persistente.

En las condiciones normales de concentración hemos encontrado que las orinas de los cancerosos dan cifras inferiores á 6 cent. cúb., mientras que las orinas de los cancerosos por nosotros ensayadas, dan cifras superiores siempre á los 6 cent. cúb.

El aumento de la afrosidad parece marchar paralelamente á la aparición de la reacción de Salomón en la orina.

He aquí la lista de los casos ensayados:

1.° Orina de densidad, 1'024. Reacción de Salomón, débilmente positiva. Se necesitan 6 cent. cúb. para producir espuma persistente. Diagnosticado de cáncer de hígado (palpable).

2.° Orina de densidad, 1'021. Reacción de Salomón, positiva. Se necesitan 3 cent. cúb. para producir espuma. Diagnóstico: cáncer de cardias (esofagoscopia).

(1) Véase Carracido, Memoria de las aguas de Karlsbad.

3.° Densidad, 1'023. Reacción de Salomón, positiva. Se gastan 3'2 centímetros cúbicos. Diagnóstico: cáncer de hígado (autopsia).

4.° Densidad, 1'025. Reacción de Salomón, positiva. Se gastan 6'5 centímetros cúbicos. Diagnóstico: cáncer de estómago.

5.° Densidad, 1'018. Reacción de Salomón, positiva. Se gastan 4'1 centímetros cúbicos. Diagnóstico: cáncer de estómago.

6.° Densidad, 1'019. Reacción de Elsberg, positiva. Se gastan 3 centímetros cúbicos. Diagnóstico: cáncer de estómago (palpable).

7.° Densidad, 1'017. Se gastan 4'8 cent. cúb. Diagnóstico: cáncer de cardias (esofagoscopia).

8.° Densidad, 1'020. Se gastan 3'5 cent. cúb. Diagnóstico: cáncer de estómago (autopsia).

9.° Densidad, 1'019. Se gastan 3'9 cent. cúb. Diagnóstico: cáncer de estómago é hígado (autopsia).

10. Densidad, 1'028. Se gastan 2'4 cent. cúb. Diagnóstico: cáncer de cardias (autopsia).

11. Densidad, 1'026. Reacción de Salomón, positiva. Se gastan 4'2 centímetros cúbicos. Diagnóstico: cáncer de estómago.

12. Densidad, 1'012. Reacción de Salomón, positiva. Se gastan 4'0 centímetros cúbicos. Diagnóstico: cáncer de hígado (palpable).

13. Densidad, 1'028. Se gastan 4'3 cent. cúb. Diagnóstico: cáncer de estómago (palpable).

En orinas de individuos normales hemos hecho muchas determinaciones; en ningún caso se han empleado más de 6 cent. cúb. para obtener espuma persistente.

Como curiosidad citaremos lo que ocurre en la orina de un nefrítico que contiene albúmina. Densidad, 1'008. Se gastan 1'2 cent. cúb. Después de quitar las albúminas, coagulando por calor se gastan 8 cent. cúb.

La estadística que presentamos no es muy extensa. En todos los casos la determinación ha sido positiva. No creemos, sin embargo, que sea un dato absolutamente seguro para el diagnóstico del cáncer. Parece presentarse con cierta frecuencia un aumento de la afrosidad en la orina de los cancerosos; y como esta constante es tan fácil de determinar, puede tener cierta utilidad en el diagnóstico.

(Madrid. Laboratorio de la Sala 37 del Hospital General. Clínica del Dr. Juan Madinaveitia).

El reflejo oculo-cardiaco en el hipertiroidismo

POR

G. MARAÑÓN

El reflejo oculo-cardíaco consiste, como es sabido, en la disminución del número de pulsaciones al ser comprimido el globo del ojo contra el fondo de la órbita. Desde que Achsner lo descubrió ha dado lugar á multitud de trabajos; pero aún no se ha precisado su exacta significación clínica ni su patogenia.

Desde luego se admite que el reflejo tiene por vía centrípeta el trigémino, excitado por la compresión del bulbo ocular, y por vía centrífuga el neumogástrico, que, al ser excitado, retarda el número de latidos cardíacos. Teniendo esto en cuenta, su exploración tendrá especial interés en aquellos procesos patológicos en que el sistema nervioso de la vida vegetativa esté funcionalmente alterado; un grupo de este tipo de procesos es el hipertiroidismo, en cuya sintomatología intervienen fenómenos variables de excitación ó depresión de alguno ó de varios de los segmentos del sistema vegetativo, ó bien de su totalidad.

Diferentes autores han explorado el comportamiento del reflejo oculo-cardíaco en casos de hipertiroidismo, siendo, á este respecto, el documento más importante el de Guillaumont (1). Nosotros también hemos recogido este dato en un número bastante crecido de basedowianos, y, como nuestros resultados difieren algo de los expuestos hasta ahora y tienen el valor de estar fundados en una casuística más numerosa que la de los otros autores, vamos á resumir en breves conclusiones los resultados obtenidos.

Consideramos como *positivo* el reflejo cuando la compresión del globo ocular hace disminuir más de ocho pulsaciones al minuto. Como *negativo*, cuando el descenso del número de pulsaciones es menor de ocho, ó no existe. Cuando el número de pulsaciones se hace mayor, el reflejo es *invertido*. En muchos casos hemos observado, como todos los autores que han estudiado este problema, *descenso, á veces violento, de la presión arterial*, y con frecuencia, con mucha más de la que parecen indicar los trabajos consultados, *arritmias*. No hemos podido comprobar que la com-

(1) *Guillaumont:* Le reflexe oculo-cardiaque dans le syndrome de Basedow. Thèse de París, 1914.

presión del bulbo ocular derecho sea más eficaz que la del izquierdo.

En los tres meses que han durado nuestras investigaciones hemos observado 47 casos de hipertiroidismo en todas sus formas (1) (Basedow típico, con predominio vagotónico ó simpatico-tónico, de forma crónica ó aguda; hipertiroidismos frustrados, monosintomáticos; bocios simples consecutivamente hipertiroidizados, etc.).

He aquí el resumen:

Reflejo positivo..................	29 veces.......	61'7 por 100.
— negativo................	16 —	34 —
— invertido...............	2 —	4'2 —

Por lo tanto, el reflejo oculo-cardíaco es positivo en un número grande de casos de hipertiroidismo; coinciden estas cifras, poco más ó menos, con las de Guillaumont, que da 66 por 100 de casos positivos, 34 por 100 negativos y 10 por 100 invertidos.

Este autor y, en general, casi todos los que se han ocupado del estudio del reflejo de que tratamos, pretenden establecer, fundados en este síntoma, una separación más neta que la obtenida por la exploración clínica y la farmacodinámica, entre los casos *vagotónicos* y los *simpaticotónicos*, es decir, entre aquellos en que predominan los síntomas de excitación del vago (neumogástrico) y los que ofrecen en su sintomatología un predominio de las manifestaciones de hiperexcitación del simpático: los casos vagotónicos darían reflejo positivo; los simpaticotónicos, negativo ó invertido.

Nosotros no hemos podido comprobar esta afirmación. Los casos positivos se han dado tanto en enfermos con muchos síntomas vagotónicos, como en casos simpaticotónicos casi puros (exoftalmos, taquicardia acentuada, tendencia á la glucosuria, etc.), *lo mismo en casos crónicos que en agudos*, etc.

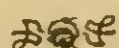
Confirma esto nuestra idea, muchas veces repetida, de la falsedad de esa distinción en casos vagotónicos y simpáticos: todos los casos presentan síntomas mezclados de uno y otro tipo; y aun los que más simpaticotónicos parecen clínicamente, presentan con frecuencia una manifestación tan netamente vagotónica como el reflejo de Achsner positivo.

Muchas veces el reflejo era muy fuerte: en dos casos, la disminución de pulsaciones alcanzó la cifra de 20 por minuto; una vez, 24; otra, 25;

(1) Posteriormente, hasta la publicación de esta nota, hemos recogido 15 observaciones más, cuyos resultados no alteran las conclusiones primeras. El detalle de todas estas observaciones, más la discusión de varios puntos todavía inciertos del reflejo de Achsner, serán objeto de una Memoria que preparamos.

dos veces, 28; una, 32; dos, 36, y, por último, otras dos, 40. La intensidad del reflejo no se puede relacionar con la intensidad del hipertiroidismo (uno de los casos de 40 era una mujer menopáusica, con hipertiroidismo leve); en cambio, se relaciona con la intensidad de los síntomas nerviosos.

Prácticamente, no creemos que se pueda fundamentar ninguna indicación diagnóstica ni terapéutica en el comportamiento del reflejo oculocardíaco. No puede darse, sin embargo, por definitivamente resuelto ninguno de los puntos relacionados con este asunto.



SESIÓN DEL 16 DE JUNIO DE 1916



Dispositivo sencillo para observar la fototaxis

POR EL

R. P. JAIME PUJIULA, S. J.



La observación macroscópica de los fenómenos fototácticos, en virtud de los cuales los microorganismos son solicitados por la luz *(fototaxis positiva)* ó se escapan de ella *(fototaxis negativa)*, no parece ofrezca especial dificultad, ya que en este caso los microorganismos, v. gr., las zoosporas, suelen observarse en masa, por ejemplo, dentro de un tubo. No sucede lo mismo cuando se trata de estudiar el carácter fototáctico de cada microorganismo, pues entonces es preciso valerse de alguna disposición que permita ver los fenómenos á través del microscopio, medio indispensable, por otro lado, para determinar el grupo sistemático á que pertenecen los microorganismos que reaccionan fototácticamente.

No dudamos que se habrán ideado y construído aparatos muy perfectos para la observación microscópica de la fototaxis. Aquí nos ha parecido dar noticia de un dispositivo que se nos ocurrió, y que, cuando menos, tiene la ventaja de ser sencillo y, por ende, económico, como que cada uno se lo puede construir con gran facilidad.

He aquí su breve descripción:

1.° Se toma un porta-objetos ordinario y en la región central de una de sus caras, que llamaremos inferior, se pega un papel negro bastante grande, para que, al colocar el porta sobre la platina, quede completamente obturado el orificio de ésta. En la región media de la parte tapa-

da se abre, con una navaja de afeitar bien afilada, una rendija transversal, v. gr., de 0'1 milímetro de ancho, que sirva para dar acceso á la luz que viene del espejo.

2.° Se hace, como de ordinario, una preparación de microorganismos, poniendo una gota del agua que los contiene, con el cubre en la cara superior del porta, que se coloca luego sobre la platina, conforme se ha indicado; se cubre en seguida la platina, ó por lo menos el porta, con

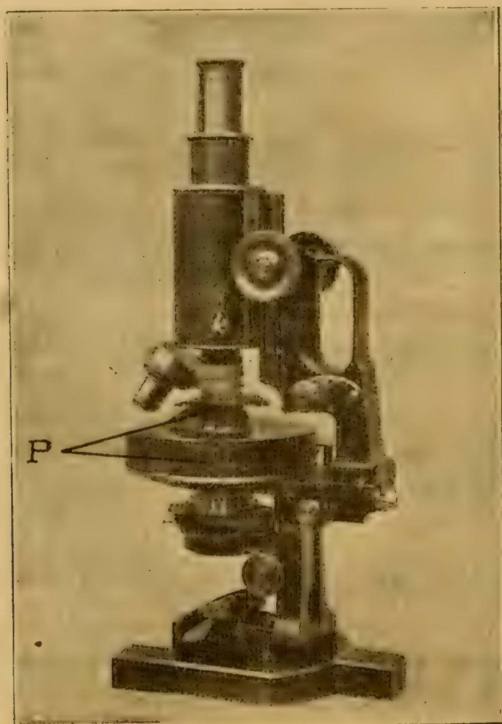


Fig. 1.—Microscopio de Zeiss, llevando sobre la platina la pantalla en forma de embudo (P).

una pantalla negra, al menos por dentro, en forma de embudo ó de cápsula, que puede ser de cartón ó de metal (1), en cuyo centro se ha practicado un agujero que franquee el paso al objetivo (fig. 1, P). El mismo objetivo lleva en la región superior una rodaja de tela ó papel negro, que tapa los bordes del agujero de la pantalla. De toda esta disposición resulta que la preparación queda encerrada como en cámara fotográfica,

(1) Nosotros usamos una pantalla metálica que se adapta perfectamente á la platina móvil del microscopio de Zeiss y sigue su movimiento.

no recibiendo más luz que la que le envía el espejo del microscopio á través de la rendija del porta.

3.° Así dispuestas las cosas, nos cercioraremos primero, valiéndonos de un objetivo de poco aumento, de que la rendija cae realmente en el centro del agujero de la platina, y esto alcanzado, podremos con toda seguridad tomar un aumento mayor, y, bajando despacio el objetivo por el orificio de la pantalla, enfocaremos la zona clara (1).

Nada más fácil ahora que observar el juego de los microorganismos que hormiguean en la preparación. Unos organismos entrarán y saldrán de la zona ó faja clara: serán organismos *afototácticos;* otros quizás escaparán de la faja clara y argüirán con esto una *fototaxis negativa;* otros, en fin, acudirán con gran avidez á la zona blanca, amontonándose allí poco á poco; son los organismos, dotados de fototaxis *positiva.*

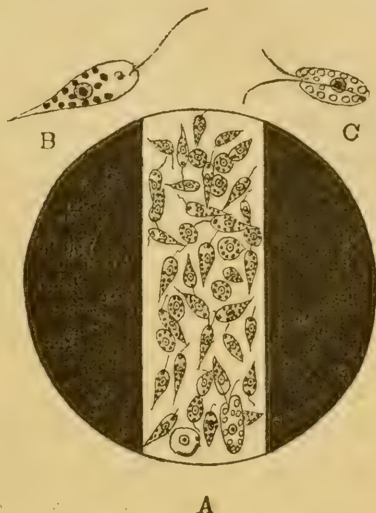


Fig. 2. — A, preparación microscópica para el estudio de la fototaxis: en la zona clara se han acumulado multitud de Euglénidos; B, un individuo de *Euglena* sp. aumentado; C, *Chilomonas paramœcium* que también existe en la preparación, aunque es *afototáctico,* según parece (dibujo algo esquemático).

Para demostrar que este aparato responde al fin, bastará dar cuenta de alguna observación.

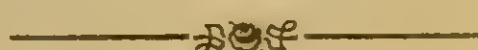
Observación.— Por medio de este dispositivo hemos podido observar admirablemente la *fototaxis positiva* de flagelados euglénidos de una infusión. Como llamados por un resorte, fueron acudiendo á la zona de luz multitud de microorganismos, cuyo movimiento, observado aun con pequeño aumento, indicaba la presencia de flagelados, quedando toda la zona como empedrada de ellos, ya que la *fototaxis positiva* los tenía como encadenados y fijos allí sin dejarlos escapar; admirable disposición para su estudio *in vivo,* sin necesidad de recurrir al espesamiento del medio con goma arábiga ú otro líquido viscoso. Examinados luego con mayor aumento, se vió que

(1) Si el aumento es, v. gr., de 400 ó más, y la rendija ha salido, como será fácil, algo ancha, difícilmente se verán los bordes obscuros que limitan la zona clara. Un aumento de 150 á 200 parece el más apto para ver la entrada ó salida de los microorganismos; aumentos superiores han de servir principalmente para determinar su grupo sistemático.

estaban provistos de clorofila, y pertenecían, según creemos, en su mayor parte, al género *Euglena* (fig. 2).

Apenas si hay necesidad de llamar la atención sobre la teleología del *fototactismo positivo* y de los *euglénidos:* microorganismos provistos de clorofila, cuya actividad asimilatriz necesita de la energía de la luz, se comprende que sean atraídos por este agente físico, del que necesitan, y huyan de la obscuridad que paraliza la síntesis orgánica. Y si esto es así, de esta consideración parece desprenderse que todo organismo que posea clorofila asimilatriz como parte integrante de su organización, será indudablemente *fototrópico* ó *fototáctico positivo*. La experiencia lo confirmará, sin duda, en los casos particulares. En cambio, el *Chilomonas paramœcium* (fig. 2, C), que carece de clorofila y abundaba también en nuestra preparación, parece indiferente á la luz; entraba y salía de la zona clara como si para él todo fuese uno.

(Laboratorio biológico del Ebro, Tortosa).



El aparato reticular de Golgi en el tubérculo de «solanum tuberosum»

POR EL

R. P. JOSÉ A. DE LABURU, S. J.

Desde que Golgi en 1898 reveló en las células nerviosas el aparato reticular que hoy lleva su nombre, gran número de biólogos dedicaron sus investigaciones al estudio del mismo con distintos métodos y en diversos materiales, consiguiendo con las mismas demostrar la existencia del aparato reticular de Golgi en casi todos los elementos histológicos animales.

El biólogo español, desde que ocho años antes (1) de la descripción por Golgi del aparato reticular lo había ya él descrito y dibujado *en cuanto á lo esencial*, señalando su presencia en un sistema de finos conductos dispuestos en forma de red dentro del protoplasma de las fibras musculares de las alas y de las patas de los insectos, hasta su último y valiosísimo trabajo, «Algunas variaciones fisiológicas del aparato reticular de Golgi» (2), ha contribuído poderosamente con sus investigaciones y con

(1) *Cajal:* Sobre la terminación de los nervios y tráqueas en los músculos de las alas de los insectos. Barcelona 1.° de Abril de 1890.

(2) *Trab. del Lab. de Invest. biol.*, tomo XII, fascículos 2 y 3, 1915.

sus nuevos métodos de impregnación al conocimiento histológico y significación fisiológica del aparato endocelular de Golgi.

Al ver nosotros que los trabajos de Cajal y de los biólogos por él citados, en sus investigaciones sobre el aparato reticular de Golgi, han recaído en diversos tejidos y en diversos estadios de seres de la escala animal, empezamos á investigarlo en los vegetales para ver si podíamos contar con un campo más de experimentación que facilitase el conocimiento del papel fisiológico que desempeña el aparato reticular de Golgi.

En esta nota nos limitaremos á indicar los resultados que hemos obtenido en el tubérculo de *solanum tuberosum*, dejando para más adelante publicar un trabajo más extenso y comparativo del aparato reticular en diversos vegetales, estudiando también, como lo ha hecho ya Tello en tumores producidos por el Kiesselgur en tejidos animales (1), las variaciones que sufre el aparato reticular de Golgi en las células vegetales bajo la acción de distintos agentes físicos.

El método que hemos seguido es el del *urano-formol*, de Cajal (2); y los resultados con él obtenidos comprueban una vez más la excelencia del método.

Pedazos de patata de un año, de 1 centímetro de largo por otro de ancho, los sumergimos durante veinticuatro horas en este líquido: *Formol, 15 cent. cúb.; agua destilada, 85 cent. cúb.; nitrato de urano, 1 gramo.* Después de lavar los pedazos de patata en agua destilada, los pasamos á una solución de *nitrato de plata al 1 por 100*, donde permanecieron veinticuatro horas sin estufa.

Sacados del nitrato y vueltos á lavar en agua destilada, los sumergimos por veinticuatro horas en *hidroquinona, 2 gramos; formol, 15 centímetros cúbicos; agua, 100 cent. cúb.; sulfito de sosa, 0'5 gramos.*

Procedimos, luego de lavado de nuevo el material, á hacer cortes á mano, deshidratación de los mismos en alcohol de 95 por 100, esencia de orégano, xilol y montaje en bálsamo.

Los resultados obtenidos prueban la existencia del aparato reticular de Golgi en los vegetales; y en los cortes del tubérculo de *solanum tuberosum*, tratados por el método del urano-formol de Cajal, he hallado la múltiple variedad de formas que Cajal describe en los diversos tejidos y diversas fases de desarrollo de los animales por él estudiados.

En la figura 1, *a*, aparece el aparato de Golgi formando típica red,

(1) *Tello:* El retículo de Golgi en las células de algunos tumores y en las del granuloma experimental producido por el Kiesselgur. *Trab. del Lab. de Invest. biol.*, fascículo 2, tomo XI, 1913.

(2) *Cajal: Trab. del Lab. de Invest. biol.*, tomo X, 1912, y tomo XII, fascículos 2 y 3, 1915.

con abundantes mallas y no gruesos trabéculos. La misma disposición se observa en la figura 2, *a*.

Estas figuras guardan estrecho parecido con las de las células bipolares del ganglio de Gasserio en el embrión de pollo del quinto día de incubación y con las de la glándula submaxilar del conejo, según las trae Cajal en su citado trabajo (1).

Las figuras 3 y 4 nos presentan también en forma reticular el aparato de Golgi; pero aquí, sobre todo en la figura 4, los trabéculos son más gruesos, y en la figura 3 aparecen como fusionados en no pequeña extensión del territorio central de la red.

Nos parece que estos retículos podían contarse en la variedad del *retículo hipertrófico ó picnomorfo* con que dice Cajal podrían designarse algunas variedades de retículos en las neuronas sensitivas pequeñas (2).

Es notable cómo se nos presenta el aparato de Golgi en las figuras 5, A, y 5, B, que son fotografías de una misma célula, pero con distinto enfoque.

En la figura 5, A, se nos presenta á un lado el aparato de Golgi, *a*, reticulado; mas no en la forma ordinaria, sino más bien constituído por dos masas de gruesos trabéculos unidos entre sí por otros trabéculos paralelos y muy finos, *b*. En el otro lado de la célula se halla el retículo como fragmentado, viniendo á terminar en la parte superior de la célula en una hermosa corona, *b*, fig. 5, B.

Muy parecida á esta corona es la forma del aparato reticular de la figura 6, en el que se destacan bien las varicosidades en el fino y continuo cordón que lo forma.

También en las figuras 1, *b*, y 2, *b*, tenemos al aparato reticular en forma de corona.

El de la figura 6 recuerda al aparato de Golgi en la zona de los grandes condroplasmas; y el de la figura 2, *b*, al de los osteoblastos jóvenes, según se ve en Cajal (3).

Es de elegante trazado el aparato reticular de la figura 7, que presenta algunos de sus extremos libres anillados.

Un caso típico de retículo pálido vemos en la figura 8, en que aparecen anchas mallas, cuyas redes parecen formadas por granitos unidos entre sí por una substancia muy pálida. Puede corresponder este tipo á la *modalidad de retículo pálido, como en vías de desintegración*, que señala Cajal en los ganglios sensitivos (4).

Con mucha frecuencia se presenta en el tubérculo de *solanum tubero-*

(1) *Cajal:* Loc. cit., págs. 145, 167 y 168.
(2) *Cajal:* Loc. cit., pág. 188.
(3) *Cajal:* Loc. cit., págs. 155 y 158.
(4) *Cajal:* Loc. cit., pág. 188.

José A. de Laburu, S. J. — **El aparato reticular de Golgi en el tubérculo de «solanum tuberosum».**

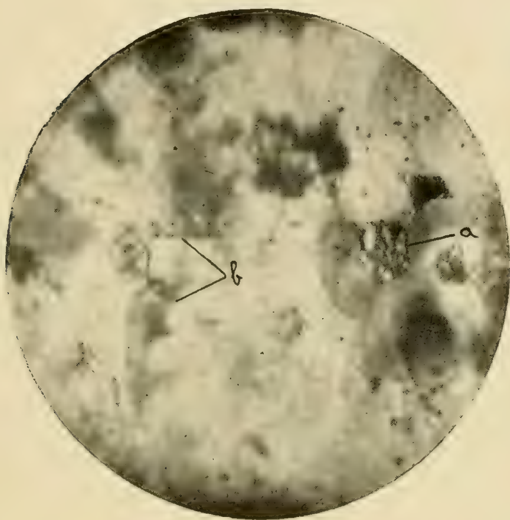


Figura 1.

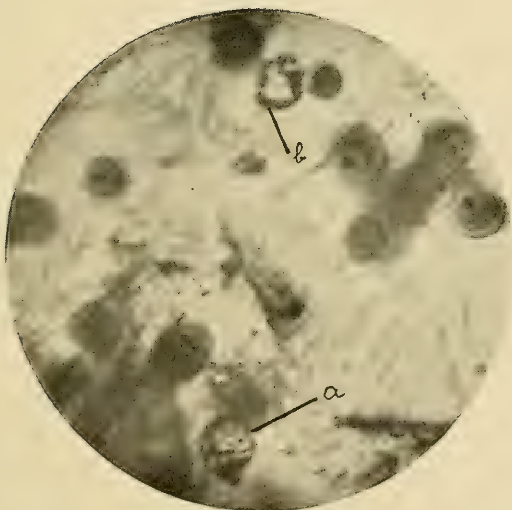


Figura 2.



Figura 3.



Figura 4.



Figura 5, *A.*

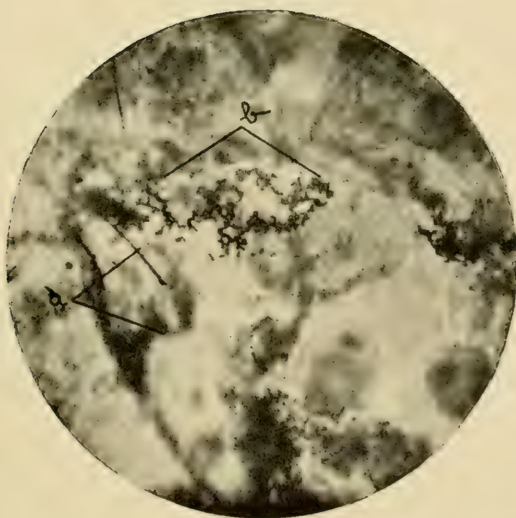


Figura 5, *B.*

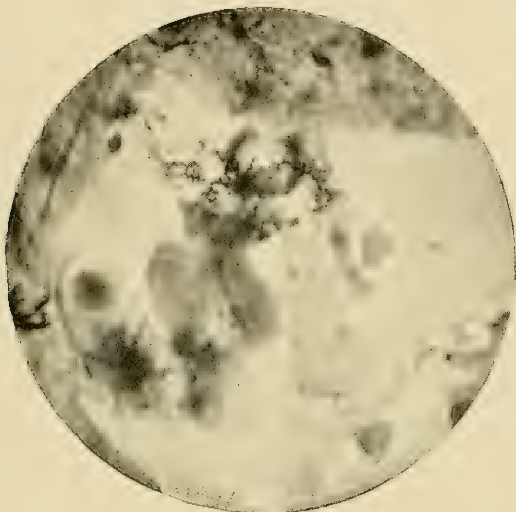


Figura 6.



Figura 7.

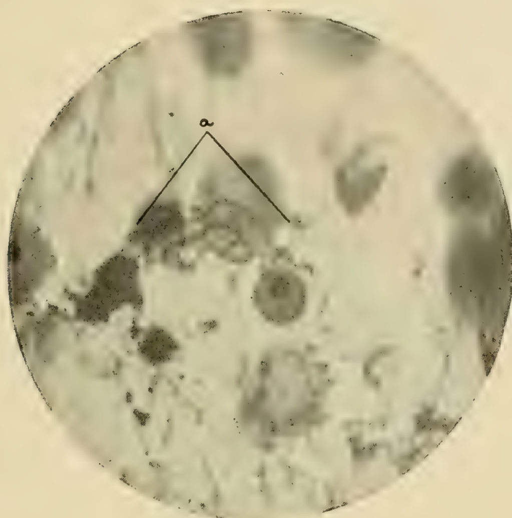


Figura 8.

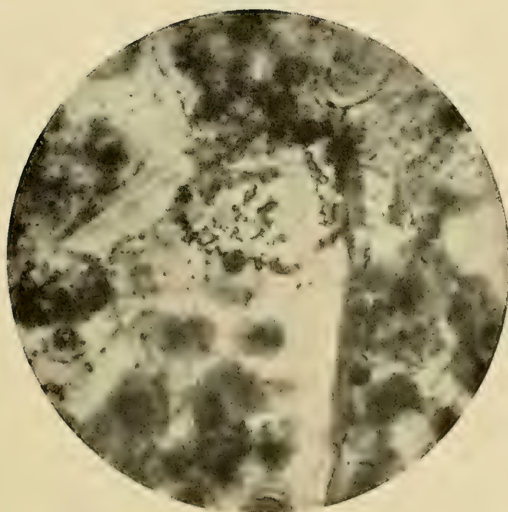


Figura 9.

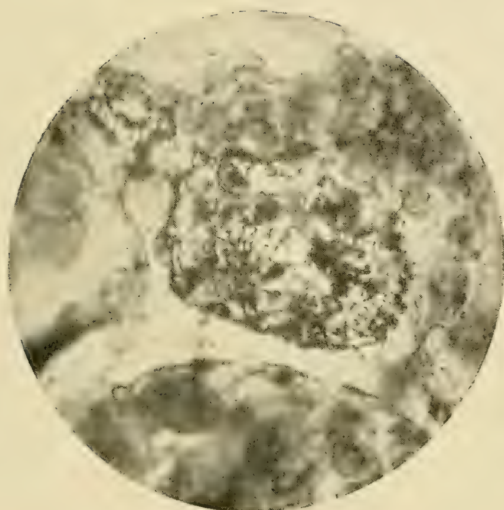


Figura 10.

sum el aparato reticular en la forma con que lo vemos en la figura 9, que pertenecería al tipo *coronario ó en forma de cintura*, señalado por J. Ramón y Fañanás en su trabajo «Alteraciones del aparato reticular de Golgi en las células gigantes y otros elementos del tubérculo» (1).

Casi todas las alteraciones señaladas por J. Ramón y Fañanás en el trabajo citado, en el aparato reticular de Golgi de material tuberculoso humano, las hemos hallado nosotros en el tubérculo de la patata.

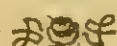
En la figura 10 vemos al aparato reticular disgregado y extendido por toda la célula

Como se ve por lo que llevamos dicho, podemos hallar en el tubérculo de *solanum tuberosum* casi entera la múltiple variedad de formas con que suele presentarse el aparato de Golgi, desde la forma típica hasta la de pulverización.

Aún no tenemos bien estudiadas la polarización y las relaciones del aparato reticular con el núcleo; por lo que no nos atrevemos por ahora á sacar conclusiones sobre este punto.

Estamos también estudiando en otros vegetales (2) el aparato reticular, variando el tiempo y concentración con que se ha de emplear en los vegetales la específica y segura fórmula de Cajal, del *urano-formol*, pues en algunos vegetales en que la hemos ensayado se ve que es conveniente variar la concentración y el tiempo de acción de la fórmula *urano-formol*.

(Laboratorio de Biología del Colegio Máximo, S. J. Oña-Burgos).



Nuevos datos sobre cristaloides intranucleares en Pinguicula grandiflora

POR EL

R. P. JAIME PUJIULA, S. J.

El núcleo, por razón de su complicada estructura y diversidad de substancias que lo constituyen, se ha comparado á una célula pequeña dentro de la grande. En un punto, sin embargo, no cuadra quizás del todo la comparación y es tocante á las inclusiones. Verdad es que, según

(1) *J. Ramón y Fañanás:* Alteraciones del aparato reticular de Golgi en las células gigantes y otros elementos del tubérculo. *Trab. del Lab. de Invest. biol.*, tomo XI, fascículo 2, 1913.

(2) Un material que presenta hermosísimos retículos endocelulares es la remolacha, en donde, entre otros, lo hemos hallado.

Prenant (1), se han señalado accidentalmente en el jugo nuclear inclusiones muy variadas, tales como almidón, grasa, clorofila y otros fragmentos; pero H. Molisch, en su Mikrochemie der Pflanze, claramente dice que en ningún núcleo se ha encontrado almidón, ni oxalato de calcio, ni substancias colorantes, ni tánicas y que datos contrarios deberían de fundarse en observaciones mal interpretadas (2).

De lo que no se puede dudar es que en ciertos casos existen dentro del núcleo como verdaderas inclusiones *cristaloides* (cristales albuminoideos), tanto en el reino animal como y principalmente en el vegetal. Se han hallado en células nerviosas y en huevos (3) y en una multitud de plantas pertenecientes á diversas familias.

En una nota ó comunicación presentada al Congreso científico de Valladolid (Octubre 1915), el P. José Antonio de Laburu, S. J., pudo aumentar el catálogo de plantas, donde se han encontrado cristaloides nucleares (4), añadiendo varias otras y entre ellas la *Pinguicula grandiflora*, especie distinta de aquella en que los había encontrado ya Klein.

Con objeto de comprobar la bondad de la técnica de Zimmermann para la investigación de los cristaloides, utilizada ya por el P. de Laburu, y poderle dar cabida en la obra práctica que estamos preparando, echamos mano, como material de ensayo, de la misma *Pinguicula grandiflora*, en la cual obtuvimos tan excelentes resultados, ya cuanto al método, ya cuanto á la riqueza en cristaloides del material, que nos pareció muy conveniente dar aquí cuenta de ello, mayormente pudiendo aportar, como creemos, algunos datos nuevos.

Según los datos que trae H. Molisch (5) acerca de la técnica de Zimmermann, este autor fija el material en una solución alcohólica concentrada de sublimado corrosivo. Los cortes, después de bien lavados, se pasan á una solución acuosa de fuchsina ácida al 0'2 por 100, á la cual se puede añadir algo de alcanfor para que se conserve (6). En esta solu-

(1) Véase *Prenant:* Cytologie, pág. 140, 1904.

(2) *H. Molisch:* Mikrochemie der Pflanze, pág. 327, 1913.

(3) Véase *Prenant:* Cytologie, pág. 87, 1904. También nuestro insigne Cajal nos habla de semejantes formaciones en células nerviosas en su Manual de Histología normal, pág. 202, 1914.

(4) El trabajo del P. de Laburu lleva el título: Contribución al estudio de los cristaloides del núcleo. En este trabajo se citan como plantas con cristaloides nucleares, no mencionados ó no investigados por otros, las siguientes: *Viscum album* (Lorantácea), *Magnolia grandiflora* (Magnoliácea), *Teucrium sp.* (Labiada), *Pinguicula grandiflora* (Lentibulariácea). A éstas podrá añadir probablemente alguna otra, representante de nueva familia.

(5) *H. Molisch:* Obra citada, pág. 328.

(6) Esta adición de alcanfor que aquí se indica preserva de tal manera la solución de fuchsina, que después de un año próximamente nos servimos de ella con magníficos resultados.

ción están muchas horas, lo mejor veinticuatro. Luego se lavan en agua corriente hasta decolorarlos de suerte que aparezcan sólo los cristaloides. Este lavado dura de algunos minutos hasta muchas horas, según el material.

Nosotros hemos procedido así:

1.° Hemos fijado el material unas veces en la solución alcohólica de sublimado corrosivo, como Zimmermann; otras, en una mezcla de partes iguales de alcohol absoluto y de una solución acuosa saturada de sublimado corrosivo, y otras, en la mezcla de Schaudin para protozoos, que consta de dos partes de una solución acuosa de sublimado corrosivo (7 gramos en 100 de agua caliente) y una parte de alcohol absoluto (1). Todos estos líquidos han dado excelente resultado. El tiempo de fijación se rige naturalmente por el grosor del material. Si se hacen cortes á mano de material fresco, bastan algunas horas (cuatro á seis); si el material es para incluir en parafina (respectivamente celoidina) y cortarlo con el micrótomo, se deja veinticuatro horas.

2.° Del líquido fijador pasa el material al alcohol de 70° con tintura de yodo, hasta que ésta no se decolora. Si son fragmentos para incluir, v. gr., en parafina el alcohol puede ser de 80°, de 90° y aun absoluto.

3.° Si se trata de cortes á mano, del alcohol de 70° se trasladan al agua destilada (adonde han de venir á parar finalmente también las preparaciones con cortes microtómicos antes de la tinción que sigue) media hora.

4.° Tinción en fuchsina ácida (solución acuosa al 0'2 por 100) veinticuatro horas.

5.° Lavado en agua todo el tiempo que sea necesario para diferenciar los cristaloides, de modo que sólo éstos queden teñidos.

6.° El montaje se puede hacer en gelatina-glicerina (2) ó en bálsamo de Canadá ó resina damar (3).

Los resultados del método nos los da la figura 1, que acompaña esta nota y representa dos células del parénquima de la hoja de *Pinguicula grandiflora*, donde los cristaloides rojos ó rosáceos campean en medio de las demás formaciones claras ó pálidas.

(1) Véase *Hartmann:* Praktikum der Protozoologie, pág. 3, 1909.

(2) La gelatina-glicerina hace palidecer á la larga la tinción de los cristaloides; en cambio, conserva casi como en estado natural el contenido celular.

(3) Hemos probado también el método empleado para el estudio de los cristaloides protoplásmicos, v. gr., de la patata, fijando el material (cortes) en alcohol pícrico (solución saturada) y tinción en *eosina*. Pero tratándose de cortes de la hoja y, en general, de órganos verdes por la presencia de clorofila, no da ni puede dar el método tan buenos resultados, porque la eosina tiñe en este caso con gran fuerza los cloroplastos (granos de clorofila), los cuales entorpecen la observación de las formaciones nucleares.

También se vale Zimmermann de la doble coloración, teniendo por conveniente la tinción previa en masa, mediante la hematoxilina de Delafield, antes de la inclusión en parafina. Después se da á las preparaciones otra coloración con la fuchsina ácida. Hemos probado asimismo este método, así como el colorear los cortes microtómicos primero con hematoxilina de Delafield y luego con la fuchsina dicha.

El resultado es bueno; pero no vemos la necesidad de ello si se trata sólo de investigar los cristaloides; con la fuchsina sola resaltan éstos admirablemente sobre fondo blanco. Pero si se pretende, además, poner de relieve el retículo nuclear con el nucléolo, entonces sí que se recomienda particularmente la doble coloración, tiñendo el material primero en masa, como aconseja Zimmermann, con la mencionada hematoxilina, y luego en cortes con la fuchsina; el retículo ó trama nuclear, con el nucléolo, tomarán, como dice el autor del procedimiento, un tinte violeta, y los cristaloides color rojo. Bajo este concepto es preferible el método de la doble coloración.

Persiguiendo otro objeto quisimos teñir también alguna preparación con la hematoxilina férrica de Heidenhain (1) y la tinción nos sorprendió agradablemente por la perfección y limpieza con que nos revelaba los cristaloides en los núcleos de *Pinguicula grandiflora*. No parece que le vaya mucho en zaga á la fuchsina ácida, sólo que ésta los tiñe de rojo y aquélla de negro, con gran fuerza, como si fuesen cromosomas, haciendo resaltar al mismo tiempo el nucleolo (fig. 2, *nc*), que se tiñe con la misma fuerza (2). Los cristaloides se distinguen al momento por su forma alargada, prismática ó cilíndrica, terminada en punta por ambos extremos, como luego diremos, al paso que el nucléolo es siempre redondeado. La figura 2 acabará de dar una idea de los resultados del método, sobre el cual no damos más pormenores, ya que lo único que en él varía es el colorante, cuya aplicación, como es sabido, supone la acción previa del mordiente férrico (alumbre férrico amoniacal al 4 por 100), verbigracia, durante veinticuatro horas, y la diferenciación por el mismo mordiente, algo rebajado, presupuesto siempre el lavado previo antes de cada acción.

(1) Nosotros nos valemos de una solución *puramente* acuosa de hematoxilina al 1 por 100.

(2) Eventualmente aparecen teñidas otras bolitas, sobre todo si no se ha extremado la diferenciación. Además, en algunos núcleos aparecen cristaloides prismáticos grandes y muy manifiestos, los cuales se tiñen débilmente, apareciendo de un color gris obscuro y contrastando notablemente con el nucléolo. Esto nos hace sospechar que estos cristaloides son distintos de los otros, que se tiñen con la misma fuerza que el nucléolo y que los cromosomas. Veremos de estudiar más de asiento este punto, que nos parece de interés científico.

Observación. — Por lo que toca á los datos concernientes á los mismos *cristaloides intranucleares*, que han puesto al descubierto los métodos referidos, recordaremos primeramente que, según Molisch (1), Klein los halló en células epidérmicas de las hojas de *Pinguicula alpina*; asimismo dió con ellos el Padre de Laburu, como ya se ha indicado más arriba, en células también epidérmicas de la hoja, inmediatas á las glándulas y en la base de éstas en nuestra *Pinguicula grandiflora*.

Este dato de la presencia de cristaloides en los núcleos de células epidérmicas lo han confirmado plenamente nuestros ensayos, pudiendo hacer resaltar, además, el carácter del gran tamaño que generalmente re-



Fig. 1. — Dos células parenquimatosas de la hoja de invierno de *Pinguicula grandiflora*, Lam.; C, cristaloide dentro del núcleo; P, protoplasma sembrado de granos de fécula (aumento: 650).

visten en este paraje estas formaciones respecto de otros puntos. Pero el dato que importa particularmente consignar ahora es que en la planta, objeto de esta nota, los cristaloides nucleares no son patrimonio exclusivo de células epidérmicas de la hoja; los hemos hallado en gran abundancia en todos ó casi todos los órganos, y no sólo en la epidermis, sino también en el tejido parenquimatoso, donde aparecen con una limpieza extraordinaria (figs. 1 y 3), y probablemente existen también en el prosénquima que acompaña los vasos, bien que algo desfigurados por la forma alargada de células y núcleos que tiene este tejido. Recorramos brevemente los órganos.

(1) *H. Molisch:* Mikrochemie der Pflanze, pág. 328. El trabajo en que publicó Klein estos datos, citado por H. Molisch, es: *Pinguicula alpina* als Insektenfressende Pflanze in Anatomischer Beziehung. Cohn's Beiträg. Z. Biolog. d. Pflanzen, 1880.

a) *Hojas.*—Dejando á un lado las células epidérmicas, donde ya eran conocidas, como se ha dicho, las contienen muy hermosas las células del parénquima (fig. 1), células, por otro lado, ricas generalmente en substancias de reserva hidrocarbonada (fécula), como si en ellas el protoplasma y núcleo se hubieran convenido en dividirse el trabajo de la reserva orgánica, encargándose aquél de la reserva hidrocarbonada y éste de la albuminoidea, bajo la forma condensada de cristaloides.

b) *Escapo.* — En el escapo ó pedúnculo floral hemos visto también cristaloides nucleares, tanto en la epidermis como en el parénquima cortical.

c) *Flor.* — Ninguno de los cuatro vertecillos florales carece de crista loides intranucleares. Desde luego en el cáliz son tan numerosos como en el escapo y, por ventura, aun más. En la corola escasean algo; pero no dejan de existir algunos, máxime antes de abrirse la flor; en la flor abierta hemos encontrado alguno que otro, al menos en la región espolonada. También los estambres los contienen, pero sólo en la región peduncular, siendo generalmente muy pequeños; ni en las paredes de la antera ni en los granos de polen hemos podido hacer constar su presencia. Cuanto al pistilo, podemos afirmar con toda certeza la existencia de dichas formaciones, por de pronto, en las paredes del ovario, que son verdes y están provistos de glándulas pedunculadas; pero además las hemos visto aun en el extremo distal del estigma y en la unión de éste con el ovario, esto es, en la región del pistilo, que representa un cortísimo estilo. Respecto de la placenta y de los óvulos hemos de hablar con alguna reserva : nos inclinamos á creer que existen realmente en la placenta, bien que pequeños y algo deformados. Es además cierto que en alguno que otro óvulo nos ha parecido ver con los métodos de tinción algún cristaloide bien formado; pero subsiste la duda de si pudo en absoluto ser trasladado accidentalmente allí por la técnica, ó si se puede confundir con la placa cromática de alguna célula en división cariocinética, división que no es rara en los óvulos en el estadio en que se hallaba el material.

d) *Raíz.* — También en el sistema de órganos subterráneos ó radiales descubre el microscopio alguna de estas formaciones. Podemos, por consiguiente, concluir que la *Pinguicula grandiflora* es una de las plantas más ricas en cristaloides intranucleares y que merece, por ende, ser particularmente recomendada como material de enseñanza en los laboratorios ó clases prácticas de Biología.

Datos morfológicos. — Viniendo ahora á la morfología de los cristaloides en cuestión de *Pinguicula grandiflora*, la forma más ordinaria en que se presentan, especialmente en las células parenquimatosas, es la de

un cuerpo fusiforme ó de un bastón terminado en punta por ambos extremos (figs. 1 y 3). Pero aunque en el corte óptico, ó consideradas superficialmente, sus formas sean cilíndricas, terminadas en cono por ambos extremos, todavía puede ser que en el fondo la forma típica sea prismática y aun nos parece que en algún caso se revela algo de esto. Si, en efecto, se enfocan con cuidado distintos planos, parecen descubrirse algunas veces las caras de algún prisma, ó por lo menos deducirse del juego de luz que se nota. Además, cuando la navaja corta transversalmente ó por ventura al sesgo alguno de los cristaloides gruesos que se encuentran en las células epidérmicas, la sección aparece con frecuencia claramente angulosa (fig. 2, A y B) (1); y si otras veces es más bien

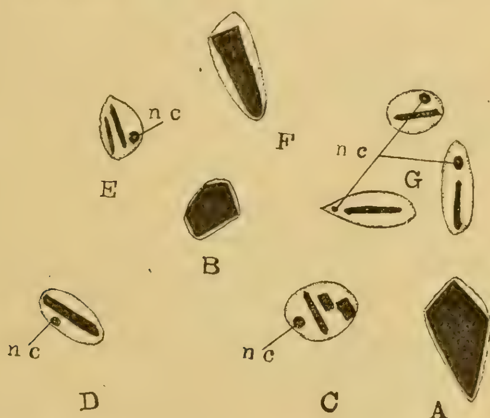


Fig. 2.— Varios núcleos de células epidérmicas ó parenquimatosas (de la región de la flor).—A, B, con cristaloide anguloso; C, con tres cristaloides; E, con dos; C, D, E, G, con nucléolo (nc). (Aumento: 800-900).

redondeada, no tiene nada de extraño, toda vez que sabemos ser propiedad de los cristaloides albuminoideos, hincharse por imbibición y modificar sus ángulos.

Aquí no entraremos en otra cuestión mucho más espinosa, esto es, en la cuestión de si estas formaciones son verdaderos cristales y á qué sistema se podrían reducir. Nos contentaremos con indicar solamente que hasta ahora ninguna actividad óptica hemos podido descubrir en ellas, ni aun en el caso más favorable de examinar cortes en fresco. No es nuestro ánimo, con todo, negarles por esto su naturaleza ó estructura cristalina, ni aun afirmar que carezcan en absoluto de la actividad ópti-

(1) Téngase, no obstante, presente lo advertido antes, esto es, que estos cristaloides grandes, en algunos casos evidentemente prismáticos, es posible que sean de naturaleza algo distinta y tengan que formar grupo aparte; en este caso el argumento no tiene fuerza para los otros cristaloides.

ca; porque, aun considerándolas como prismas del sistema exagonal ú otro que no sea el regular, ya que su forma alargada no permite incluirlas en éste, observaremos primeramente que los cristaloides que Schimper ha referido al sistema exagonal gozan sólo de débil birrefringencia (1); además, concebimos muy posible que la modificación que pueden haber experimentado dichos cristaloides ó causas extrínsecas, como la superposición de otras substancias, impidan ó desfiguren su reacción óptica. Cuando el material ha sufrido la acción de líquidos fijadores y colorantes, es aún más difícil esperar reacciones ópticas.

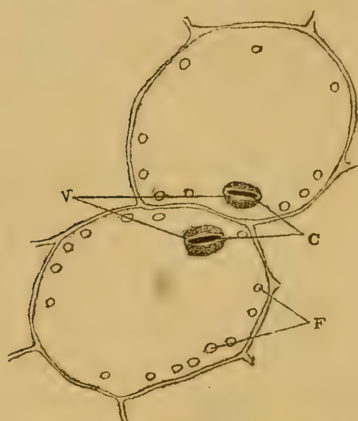


Fig. 3.—Dos células parenquimatosas (región de la flor).—C, cristaloides; V, vacuola central; F, fécula. (A. 700).

El tamaño de los cristaloides de nuestra Pinguicula varía notablemente (2). Ya se ha hecho mención de que en la epidermis son ordinariamente más regulares, ocupando el centro de una gran vacuola (fig. 3). Añadamos ahora una observación, respecto de este punto, que puede no carezca del todo de interés para la interpretación fisiológica de estas formaciones, y es que, comparando cortes de una hoja de invierno ó rudimentaria y sin glándulas, con los de otra de primavera bien desarrollada y provista de glándulas, hallamos gran diferencia de tamaño en los cristaloides, siendo por término medio mayores en aquéllos que en éstos.

Terminaremos, en fin, estos breves datos morfológicos, notando que, aunque lo más frecuente es que cada núcleo cristaloidífero lleve sólo un cristaloide, no son raros los casos de dos ó más cristaloides dentro de un solo núcleo, como se ilustra en las figuras.

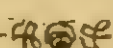
Sería de alto interés científico poder dilucidar aquí algunas cuestiones

(1) Véase *H. Molisch:* Mikrochemie der Pflanzen, pág. 335.

(2) He aquí las medidas, en *micras*, de dos diámetros, longitudinal y transversal, de algunos cristaloides, tomados al azar:

PARÉNQUIMA DE UNA HOJA DE INVIERNO		PARÉNQUIMA DE UNA HOJA DE PRIMAVERA		CRISTALOIDE EPIDÉRMICO (HOJA DE INVIERNO)
17'5 × 5	micras.	12'5 × 6'5	micras.	20 á 22'5 × 5 micras.
10'5 × 3 á 4	»	7'5 × 2'5	»	
10 á 12 × 2'5	»	11'5 × 3 á 4	»	

fisiologico-biológicas, tales como la formación ó génesis de estos cristaloides, su futuro destino y, sobre todo, su relación con la índole carnívora (mejor insectívora) de esta planta. Pero estos podrán ser temas quizás muy substanciosos que han de ser objeto de otros trabajos.



Investigaciones sobre los bacilos coli y lactis aerogenes

POR EL

DR. P. MAYORAL

CON LA COLABORACIÓN DE LOS DOCTORES

J. OLANO, R. LOBO Y D. J. CHICOTE

Durante los estudios experimentales realizados por nosotros acerca de una vacuna constituída por el colibacilo y el bacillus lactis aerogenes, hemos observado algunos hechos que creemos conveniente consignar.

Si sembramos deyecciones humanas normales y recientes en caldo ordinario dispuesto en aero y anaerobiosis, se dejan las siembras en la estufa á 37° y se examinan después de veinticuatro horas, observamos que hay abundantísimo desarrollo de bacilos del tipo del coli que, identificados bacteriológicamente, resultan ser el colibacilo solo ó unido al lactis aerogenes. Con estos gérmenes, pero en cantidad infinitamente menor, suelen encontrarse, según los individuos, un bacilo del grupo del *subtilis* y el estreptococo intestinal.

Si se emulsionan deyecciones humanas normales y recientes en proporción de 1 gramo de deyecciones por 5 cent. cúb. de caldo y, después de tamizar la emulsión, se inyecta 1 cent. cúb. en el peritoneo de un cobaya que pese aproximadamente 300 gramos, ocurre, según el individuo de quien proceden las heces y el día en que se recogen, que el animal muere ó no en las veinticuatro horas siguientes. Inyectando 2 ó 2'5 centímetros cúbicos de emulsión de deyecciones, se produce siempre la muerte.

La autopsia de animales muertos por inyección intraperitoneal de deyecciones demuestra que se ha producido una peritonitis con mayor ó menor cantidad de exudado seroso, hemático ó purulento, según la rapidez con que se produce la muerte.

El examen microscópico de exudado peritoneal de estos animales per-

mite observar un número enorme de bacilos del tipo del coli que, cultivados y clasificados, resultan ser el bacilo coli solo ó asociado al lactis aerogenes; como en las siembras de deyecciones se encuentran también algunos bacilos Gram positivos del grupo del *subtilis* y estreptococos.

Examinando la sangre del corazón, se encuentra siempre el bacilo coli solo ó con el lactis aerogenes.

La mayoría de los animales que resisten la inyección intraperitoneal de emulsión de deyecciones, sacrificados y autopsiados veinte ó treinta días después de la inyección, presentan muchas y firmes adherencias de las vísceras abdominales entre sí ó con la pared del vientre; y algunas veces se encuentran focos purulentos enquistados por las adherencias.

Los anteriores resultados se han obtenido utilizando deyecciones de cinco individuos sanos que se han inyectado en 46 cobayas.

Los hechos experimentales relatados demuestran que entre las bacterias del contenido intestinal del hombre, el bacilo coli y el lactis son las que mejor se desarrollan en los medios usuales para el cultivo de las especies patógenas; las que producen la peritonitis en el cobaya cuando se inyecta en esta cavidad deyecciones humanas en cantidad suficiente; las que reproducen en el animal las lesiones y accidentes que se observan en los procesos inflamatorios de las vísceras abdominales del hombre; lógico es considerarlos como los más peligrosos gérmenes del intestino.

Con varias razas de colibacilo y bacillus lactis aerogenes hemos preparado una vacuna que contiene 100 millones de gérmenes muertos por centímetro cúbico. Dos cobayas se inyectaron con cuatro días de intervalo, 0'25 cent. cúb. y 0'5 cent. cúb. de esta vacuna. Cuatro días después de la última inyección se inoculó en el peritoneo á estos dos y á otros testigos 0'5 cent. cúb. de cultivo de veinticuatro horas de deyecciones humanas obtenidas en caldo aerobio y anaerobio; á las veinticuatro horas estaban muertos los dos testigos y uno de los vacunados. En el peritoneo de los testigos se encontró liquido sanguinolento que contenía enorme número de bacilos del tipo coli. En el peritoneo del vacunado se encontró pus é igual clase de gérmenes; los cultivos demostraron que dichos bacilos eran el coli.

Cinco cobayas se inmunizaron con la vacuna coli-lactis en igual forma que los conejos; y para demostrar el grado de inmunidad que habían alcanzado, los sometimos á la inyección intraperitoneal de una emulsión de deyecciones humanas preparadas como se dijo al comienzo de este trabajo; al mismo tiempo, otros cinco cobayas normales, de peso igual ó superior que los vacunados, se inyectaron con la misma emulsión de deyecciones.

Al día siguiente murió uno de los vacunados y tres de los normales, encontrándose en la autopsia lesiones de peritonitis y en la sangre del corazón, el colibacilo.

Este experimento demuestra que nuestra vacuna inmuniza á los animales, no sólo contra la inyección de cultivos de bacilo coli y lactis, cosa relativamente sencilla, sino contra la peritonitis producida por la inyección intraperitoneal de deyecciones procedentes de personas distintas de aquéllas que proporcionaron las bacterias utilizadas como semillas.

La inyección de la vacuna al hombre provoca la aparición de anticuerpos específicos en el suero de la sangre, pero las aglutininas que contiene no actúan sobre todas las variedades de colibacilo que hemos empleado en la investigación.

El Dr. Blanc y Fortacín ha empleado la vacuna en el tratamiento de infecciones quirúrgicas producidas por el coli y el lactis y ha obtenido excelentes resultados, pero lo que nos interesa es consignar la siguiente observación:

Caso 4.° Absceso perinefrítico no calculoso; pus fétido y abundante. La supuración continuó después de la intervención. Se inyectaron progresivamente, con intervalos de dos á tres días, 0'3, 0'7, 1'0, 1'5 y 2'0 centímetros cúbicos de vacuna. La mejoría fué inmediata; comenzó desapareciendo la fetidez del pus y poco á poco fué disminuyendo la supuración, quedando un trayecto estrecho que en pocas semanas se cerró por completo.

En el pus se aisló un colibacilo que, sometido á la aglutinación con suero de conejo inmunizado con la vacuna, no se aglutinó; es decir, que la vacuna, que inyectada á un animal no provoca en él la producción de aglutininas capaces de obrar sobre determinado colibacilo, es capaz, inyectada al enfermo, de apresurar la curación ó curar la infección que dicho bacilo produce.

Esta observación y el experimento relatado de inyección intraperitoneal de deyecciones humanas á cobayas vacunados con coli-lactis y á otros testigos, demuestra cumplidamente que la vacuna puede provocar la producción de resistencia específica contra las más variadas razas de coli y lactis.

Resulta que los hechos demuestran, tanto en el hombre como en los animales, que puede existir inmunidad contra un gérmen aglutinable, sin que en el suero de la sangre se encuentren aglutininas. Esto no tiene nada de extraño si recordamos que en la resistencia contra la infección no son las aglutininas los anticuerpos más eficaces; lo que principalmente perjudica al organismo no es la pululación microbiana, sino la intoxi-

cación resultante de la muerte y lisis de los gérmenes. Podemos pensar que la variabilidad de los colibacilos, por lo que á la inmunidad se refiere, radica en la composición de la envoltura ó cubierta, pero que la disgregación del germen da lugar á la producción de iguales endotoxinas; por lo tanto, si con una ó más variedades de colibacilos empleados en la preparación de la vacuna no puede obtenerse que los organismos inyectados produzcan aglutininas capaces de obrar contra todos los colibacilos, en cambio se consigue que se inmunicen contra las endotoxinas resultantes de la lisis intraorgánica del germen.

(Laboratorio Municipal de Madrid. Sección de «Vacunas bacterianas y epidemiología»).

Glucemia é hiperglucemia adrenalínica en la paloma

POR

G. MARAÑÓN Y A. ROSIQUE

Las determinaciones de la glucemia normal en aves, hechas hasta el presente, son las siguientes:

Weintraud (1), en 7 patos obtuvo 0'16 por 100 por término medio. En este mismo animal (19 observaciones) obtuvo Kautzsch 0'15 por 100 como cifra media (2), y en el ganso 0'15 por 100. En 9 investigaciones en gallinas, encontraron Saito y Katayama (3) 0'20 por 100 por término medio. Finalmente, Bang (4), en un cuervo obtuvo 0'27 por 100, cifra que por su elevación se separa de las anteriores, pero tal vez sujeta á error, pues como el autor hace notar, el ave estaba irritadísima al extraerle la sangre y es sabida la influencia de la ira sobre la glucemia.

Nuestras observaciones, llevadas á cabo en cuatro palomas, repetidas varias veces, con el micrométodo de Bang, nos han dado por resultado en este animal una *glucemia normal de 0'080 por 100.*

Esta cifra es algo más baja que las precedentemente citadas en otras aves, pero coincide con las más bajas, encontradas también por nosotros en el conejo (5); ya hemos dicho (loc. cit.) que esta diferencia general entre nuestros resultados y los obtenidos por otros investigadores de los

(1) *Weintraud: Arch. f. exp. Pathol. und Pharm.* Bd. XXXIV, 1894.
(2) *Kautzsch: Arch. f exp. Pathol. und Pharm.* Bd. XXXVII, 1896.
(3) *Saito und Katayama: Zeitsch. f. physiol. Chemie.* Bd. XXXII, 1901.
(4) *Bang:* Der Blutzucker. Wiesbaden, 1913. De esta obra hemos obtenido las indicaciones bibliográficas citadas.
(5) Véase *Marañón y Rosique:* Soc. Esp. de Biol., Abril, 1916.

países del Norte puede explicarse por la mayor temperatura de nuestro país.

Glucemia é hipertiroidización. — Inyectadas dos palomas con extractos diferentes de tiroides de enfermos hipertiroideos, *no pudimos observar aumento de la glucemia*, paralelamente á lo observado por nosotros en el conejo (loc. cit.) (1).

Glucemia y adrenalina. — *La inyección de 1 miligramo de adrenalina determina en la paloma una hiperglucemia constante.* Esta hiperglucemia, como puede observarse en los ejemplos del cuadro, *no es mayor en*

	Glucemia antes de la inyección de adrenalina.	Glucemia á las dos horas y media de la inyección de 1 miligramo de adrenalina.
I. Paloma inyectada con bocio de Basedow........	0'074	0'091
II. Paloma inyectada con bocio simple (Jodbasedow)..	0'094	0'104
III. Paloma testigo..............................	0'081	0'095

los animales hipertiroidizados que en los testigos; no se observa, pues, la movilización latente de los hidratos de carbono, demostrado por nosotros en los conejos hipertiroidizados.

Por último, es de señalar *la moderación de esta hiperglucemia adrenalínica en la paloma.* Mientras en el conejo la cantidad de azúcar de la sangre se ha elevado, hacia las dos horas y media de realizada la inyección, en proporción de 30 á 70 miligramos por 100 (casi siempre más de 40), en la paloma esa elevación no pasa á las dos horas y media de 10, 20 y á lo sumo 35 miligramos por 100. Esta diferencia entre la paloma y el conejo es tanto más llamativa cuanto que dichas aves recibían cantidades proporcionalmente mayores de adrenalina: 1 miligramo, como los conejos, pesando la mitad ó menos que éstos.

Esta torpidez para la reacción hiperglucémica de la adrenalina demostrada en la paloma, podría explicarse por el menor desarrollo y la menor capacidad funcional del sistema suprarrenal de las aves (en este caso de las palomas) con relación al conejo, y, en mayor grado aún, al hombre.

(1) Por otra parte, en la paloma tampoco se producían los síntomas hipertiroideos que hemos observado y descrito en los conejos tratados según la misma técnica y con los mismos extractos (nervosismo, palpitación, etc.; en cambio, sí se pudo comprobar una ligera pérdida de peso, en los animales tratados).

(Laboratorio del Instituto de Medicina Legal de Madrid. Director: Dr. Maestre).

Año VI. Enero-Junio, 1916. Núm. 33.

BOLETÍN

DE LA

SOCIEDAD ESPAÑOLA

DE

BIOLOGÍA



SUMARIO

(Continúa en la página 2 de esta cubierta).

MADRID
IMPRENTA DE HIJOS DE NICOLÁS MOYA
Garcilaso, 6, y Carretas, 8.

1916

Advertencias importantes.

Con objeto de evitar retrasos en la entrega de los originales ó comunicaciones hechas en la Sociedad, se ruega á los Sres. Socios que hayan de tomar parte en una sesión, lleven consigo el original escrito ó, por lo menos, una nota abreviada del mismo, y lo entreguen al Secretario después de su lectura. Sin esta condición no se permitirá el presentar la comunicación.

A cada comunicante le serán entregados 50 ejemplares de su comunicación, recortados del Boletín; el que desee una tirada aparte en regla, lo advertirá al entregar el manuscrito y abonará los gastos que ocasione.

La correspondencia relacionada con la publicación del Boletín, debe dirigirse al Secretario, D. Gregorio Marañón, Lista, 11, Madrid.

El precio de suscripción al Boletín es **12 pesetas** al año en España y **13 francos** en el extranjero.


MBL WHOI Library - Serials
5 WHSE 02776

